Postverlagsort Berlin

ZEITSCHRIFT
FÜR
VERGLEICHENDE PHYSIOLOGIE

BEGRÜNDET VON

K. v. FRISCH UND A. KÜHN

HERAUSGEGEBEN VON

K. v. FRISCH
MÜNCHEN

E. v. HOLST
SEEWIESEN/OBB.

H. H. WEBER
HEIDELBERG

43. BAND, 3. HEFT

MIT 53 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 7. JUNI 1960)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1960

Z. vergl. Physiol.

Preis DM 36.80

Zeitschrift für vergleichende Physiologie

Begründet 1924 von K. von Frisch und A. Kühn. Band 1—29 (1934) unter dem Titel: „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abt. C: Zeitschrift für vergleichende Physiologie. Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für vergleichende Physiologie"** steht offen Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der allgemeinen Physiologie und speziellen Tierphysiologie, soweit die Ergebnisse als Bausteine zu einer vergleichenden Physiologie gewertet werden können.

Die Zeitschrift erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials zwanglos, in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Die Arbeiten können in deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßt sein.

Manuskripte nehmen entgegen:

Professor Dr. K. von Frisch, München 9, Über der Klause 10,

Professor Dr. E. von Holst, Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie, Seewiesen/Obb. über Starnberg,

Professor Dr. H. H. Weber, Institut für Physiologie im Max-Planck-Institut für Med. Forschung Heidelberg, Jahnstraße 29.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 60.— für eine Arbeit.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke unentgeltlich.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Im Interesse der unbedingt gebotenen Sparsamkeit wollen die Herren Verfasser auf knappste Fassung ihrer Arbeiten und Beschränkung des Abbildungsmaterials auf das unbedingt erforderliche Maß bedacht sein.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Springer-Verlag

Heidelberg
Neuenheimer Landstraße 28—30
Fernsprecher 27901

Berlin-Wilmersdorf
Heidelberger Platz 3
Fernsprecher 830301

---

43. Band — **Inhaltsverzeichnis** — 3. Heft

Seite

Kulzer, E., Physiologische und morphologische Untersuchungen über die Erzeugung der Orientierungslaute von Flughunden der Gattung *Rousettus*. Mit 23 Textabbildungen 231

Khalil, F., and G. Haggag, Xanthine oxidase and arginase in the liver and kidney of reptiles 269

Khalil, F., and G. Haggag, Ureotelism and uricotelism in tortoises in relation to arginase and xanthine oxidase activities 278

Reis, A., geb. Siebel, Retinomotorische Vorgänge im Larvenauge des Rükkenschwimmers *Notonecta glauca*. Mit 10 Textabbildungen 282

Esch, H., Über die Körpertemperaturen und den Wärmehaushalt von *Apis mellifica*. Mit 19 Textabbildungen 305

Pavlović, V., Senkungsgeschwindigkeit der Erythrozyten bei einigen Arten von Reptilien Norddalmatiens 336

Kunte, H., Vergleichende Untersuchungen zum Tryptophanstoffwechsel in Leberzellfraktionen bei Wirbeltieren. Mit 1 Textabbildung 341

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 43, 231—268 (1960)

Aus dem Zoophysiologischen Institut der Universität Tübingen und dem Department of Medical Zoology, U.S. Naval Medical Research Unit No. 3, Cairo, Egypt *

PHYSIOLOGISCHE UND MORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE ERZEUGUNG DER ORIENTIERUNGSLAUTE VON FLUGHUNDEN DER GATTUNG *ROUSETTUS*

Von

ERWIN KULZER

Mit 23 Textabbildungen

(Eingegangen am 25. März 1960)

Inhalt

Seite

A. Einleitung und Fragestellung 231
B. Die physikalischen Eigenschaften der Orientierungslaute 233
C. Untersuchungen in der Kehlkopfregion 234
I. Untersuchungen über die Morphologie des Kehlkopfes 235
II. Physiologische Untersuchungen am Kehlkopf 239
D. Untersuchungen in der Mundregion 242
I. Untersuchungen über die Morphologie der Mundregion 242
II. Physiologische Untersuchungen in der Mundregion 246
E. Die Erzeugung der Orientierungslaute während der Jugendentwicklung . . 264
Schluß 266
Zusammenfassung 266
Literatur 267

A. Einleitung und Fragestellung

Fledermäuse finden ihren Weg auch in der dunkelsten Nacht. Sie erzeugen Laute, durch deren Echo sie Hindernisse von weniger als 1 mm Dicke sicher erkennen. Bei den meisten der bisher untersuchten Arten sind diese „Orientierungslaute" oberhalb der Hörgrenze des menschlichen Ohres.

Mit der Entdeckung der Echo-Orientierung bei Fledermäusen ergab sich die Frage nach dem *Ort und dem Mechanismus dieser Lauterzeugung*.

Die Vermutung, daß bei den Vespertilioniden der Kehlkopf der Erzeugungsort und das Maul der Ausführungskanal dieser explosionsartigen Laute ist, wurde erstmals von GRIFFIN und GALAMBOS (1940) geäußert. Sie konnten an *Myotis lucifugus* zeigen, daß ein Verschluß des Maules die Lauterzeugung merklich behinderte. GRIFFIN (1952) errechnete für die Stimm-Membran des Kehlkopfes eine Resonanzfrequenz

* Die Arbeiten wurden gefördert durch Mittel der Deutschen Forschungsgemeinschaft, die mir durch Herrn Prof. Dr. MÖHRES zur Verfügung standen und durch das U.S. Naval Medical Research Unit Nr. 3 in Kairo. Für die Themastellung und die Anregung zu dieser Arbeit danke ich herzlich Herrn Prof. MÖHRES, für unersetzliche Hilfe in Afrika Dr. H. HOOGSTRAAL, dem Leiter des Department of Medical Zoology des U.S.-NAMRU Nr. 3 in Kairo.

Zeitschrift für vergleichende Physiologie

Begründet 1924 von K. von Frisch und A. Kühn. Band 1—29 (1934) unter dem Titel: „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abt. C: Zeitschrift für vergleichende Physiologie. Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für vergleichende Physiologie"** steht offen Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der allgemeinen Physiologie und speziellen Tierphysiologie, soweit die Ergebnisse als Bausteine zu einer vergleichenden Physiologie gewertet werden können.

Die Zeitschrift erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials zwanglos, in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Die Arbeiten können in deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßt sein.

Manuskripte nehmen entgegen:

Professor Dr. K. von Frisch, München 9, Über der Klause 10,

Professor Dr. E. von Holst, Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie, Seewiesen/Obb. über Starnberg,

Professor Dr. H. H. Weber, Institut für Physiologie im Max-Planck-Institut für Med. Forschung Heidelberg, Jahnstraße 29.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 60.— für eine Arbeit.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke unentgeltlich.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Im Interesse der unbedingt gebotenen Sparsamkeit wollen die Herren Verfasser auf knappste Fassung ihrer Arbeiten und Beschränkung des Abbildungsmaterials auf das unbedingt erforderliche Maß bedacht sein.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Springer-Verlag

Heidelberg
Neuenheimer Landstraße 28—30
Fernsprecher 27901

Berlin-Wilmersdorf
Heidelberger Platz 3
Fernsprecher 830301

---

43. Band — **Inhaltsverzeichnis** — 3. Heft

Seite

Kulzer, E., Physiologische und morphologische Untersuchungen über die Erzeugung der Orientierungslaute von Flughunden der Gattung *Rousettus*. Mit 23 Textabbildungen 231

Khalil, F., and G. Haggag, Xanthine oxidase and arginase in the liver and kidney of reptiles 269

Khalil, F., and G. Haggag, Ureotelism and uricotelism in tortoises in relation to arginase and xanthine oxidase activities 278

Reis, A., geb. Siebel, Retinomotorische Vorgänge im Larvenauge des Rükkenschwimmers *Notonecta glauca*. Mit 10 Textabbildungen 282

Esch, H., Über die Körpertemperaturen und den Wärmehaushalt von *Apis mellifica*. Mit 19 Textabbildungen 305

Pavlović, V., Senkungsgeschwindigkeit der Erythrozyten bei einigen Arten von Reptilien Norddalmatiens 336

Kunte, H., Vergleichende Untersuchungen zum Tryptophanstoffwechsel in Leberzellfraktionen bei Wirbeltieren. Mit 1 Textabbildung 341

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 43, 231—268 (1960)

Aus dem Zoophysiologischen Institut der Universität Tübingen und dem Department of Medical Zoology, U.S. Naval Medical Research Unit No. 3, Cairo, Egypt *

PHYSIOLOGISCHE UND MORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE ERZEUGUNG DER ORIENTIERUNGSLAUTE VON FLUGHUNDEN DER GATTUNG *ROUSETTUS*

Von

ERWIN KULZER

Mit 23 Textabbildungen

(Eingegangen am 25. März 1960)

Inhalt

Seite

A. Einleitung und Fragestellung 231
B. Die physikalischen Eigenschaften der Orientierungslaute 233
C. Untersuchungen in der Kehlkopfregion 234
I. Untersuchungen über die Morphologie des Kehlkopfes 235
II. Physiologische Untersuchungen am Kehlkopf 239
D. Untersuchungen in der Mundregion 242
I. Untersuchungen über die Morphologie der Mundregion 242
II. Physiologische Untersuchungen in der Mundregion 246
E. Die Erzeugung der Orientierungslaute während der Jugendentwicklung . . 264
Schluß 266
Zusammenfassung 266
Literatur 267

A. Einleitung und Fragestellung

Fledermäuse finden ihren Weg auch in der dunkelsten Nacht. Sie erzeugen Laute, durch deren Echo sie Hindernisse von weniger als 1 mm Dicke sicher erkennen. Bei den meisten der bisher untersuchten Arten sind diese „Orientierungslaute" oberhalb der Hörgrenze des menschlichen Ohres.

Mit der Entdeckung der Echo-Orientierung bei Fledermäusen ergab sich die Frage nach dem *Ort und dem Mechanismus dieser Lauterzeugung*.

Die Vermutung, daß bei den Vespertilioniden der Kehlkopf der Erzeugungsort und das Maul der Ausführungskanal dieser explosionsartigen Laute ist, wurde erstmals von GRIFFIN und GALAMBOS (1940) geäußert. Sie konnten an *Myotis lucifugus* zeigen, daß ein Verschluß des Maules die Lauterzeugung merklich behinderte. GRIFFIN (1952) errechnete für die Stimm-Membran des Kehlkopfes eine Resonanzfrequenz

* Die Arbeiten wurden gefördert durch Mittel der Deutschen Forschungsgemeinschaft, die mir durch Herrn Prof. Dr. MÖHRES zur Verfügung standen und durch das U.S. Naval Medical Research Unit Nr. 3 in Kairo. Für die Themastellung und die Anregung zu dieser Arbeit danke ich herzlich Herrn Prof. MÖHRES, für unersetzliche Hilfe in Afrika Dr. H. HOOGSTRAAL, dem Leiter des Department of Medical Zoology des U.S.-NAMRU Nr. 3 in Kairo.

von etwa 45 kHz, die mit den tatsächlich erzeugten Frequenzen (30 bis 70 kHz) annähernd übereinstimmt.

Besonders aufschlußreich waren Experimente, in denen die einzelnen Nerven des Kehlkopfes unterbrochen wurden. Überraschenderweise zeigten die Fledermäuse nach beidseitiger Durchtrennung des *N. laryngicus caudalis* keine erkennbare Störung ihrer Orientierungslaute. Wurden dagegen die äußeren Äste des *N. laryngicus cranialis* durchschnitten, so trat eine erhebliche Verminderung der Frequenz (bis auf etwa 10 kHz) ein.

NOVICK (1955) verfeinerte diese Methode. Er analysierte gleichzeitig Orientierungslaute und Aktionspotentiale von verschiedenen Muskeln und Nerven des Kehlkopfes. Er fand, daß bei *Eptesicus* das Aktionspotential des *M. cricothyreoideus* etwa 25 ms vor dem Ultraschall-Laut beginnt und kurz nach dem Einsetzen des Lautes endet.

Abb. 1 *Rousettus aegyptiacus*

Noch unbekannt ist bis jetzt der Mechanismus, der die Dauer der Orientierungslaute von wenigen Millisekunden verursacht, da die Dauer der Laute auch nach völliger Denervation des Kehlkopfes eine Zeitlang nicht wesentlich geändert wird (GRIFFIN 1958).

Zu anderen Ergebnissen gelangte MOTTA MANNO (1951). Er untersuchte an geblendeten Tieren (*Plecotus auritus* und *Myotis myotis*) nach Durchschneidung der Muskeln und Nerven des Stimmapparates die *Orientierungsleistungen*. Er stellte fest, daß eine Verletzung des Kehlkopfeinganges die Hinderniswahrnehmung unmöglich macht, selbst wenn die Stimmbänder unverletzt sind. Er bezeichnet die *Plicae aryepiglotticae* als stimmerzeugendes Organ. Diese Falten können entgegen der Meinung von GROSSER (1902) und ELIAS (1907) zu einer Spalte verschlossen werden.

MÖHRES (1953a) bezeichnete die Orientierungslaute der *Vespertilioniden* als Sprenglaute, die durch intermittierende Aufstauung des Atemluftstromes und nachfolgender Sprengung des Verschlusses im Kehlkopf zustande kommen.

Auch die tonhaften Laute der *Rhinolophiden* werden nach MÖHRES (1953a) im Kehlkopf erzeugt. Dafür spricht 1. die Abhängigkeit der Lautintensität von der Atemphase, 2. die Eignung des Kehlkopfes zur

Erzeugung hochfrequenter Laute (Trachealampullen als Resonatoren) und 3. die enge Verbindung der inneren und oberen Luftwege.

Nach diesen Erkenntnissen darf man sicher annehmen, daß die Lauterzeugung bei den *Mikrochiropteren* im Respirationstrakt, im Kehlkopf und seinen umgebenden Strukturen erfolgt. Der in vielen Einzelheiten spezialisierte Kehlkopf der Fledermäuse (Elias 1907) deutet schon auf besondere stimmliche Leistungen hin. Da operative Eingriffe an dem nur wenige Millimeter großen Kehlkopf sehr schwierig sind und da die mechanischen Vorgänge der Lauterzeugung nicht direkt beobachtet werden können, blieben eine Reihe wichtiger Fragen noch ungeklärt.

Die Entdeckung und Untersuchung der Echo-Orientierung bei *Flughunden (Megachiroptera)* der Gattung *Rousettus* (Abb. 1) eröffnete neue Möglichkeiten, die Probleme zu untersuchen (Möhres 1953b, Möhres und Kulzer 1955). Diese Tiere besitzen im Gegensatz zu den Mikrochiropteren neben ihrer Echo-Orientierung ein ausgeprägtes Dämmerungssehen und ein gutes geruchliches Orientierungsvermögen. Von allen bisher untersuchten Flughundgattungen verfügen jedoch sie allein über eine leistungsfähige Echo-Orientierung (Novick 1958; Griffin, Novick and Kornfield 1958). Durch ihre Größe sind sie für operative Eingriffe am Kehlkopf besser geeignet als Mikrochiropteren. Ein Teil dieser Arbeit wurde bereits als vorläufige Mitteilung veröffentlicht (Kulzer 1956). Hier soll über die Untersuchungen zusammenfassend und mit dem nötigen Beweismaterial berichtet werden.

B. Die physikalischen Eigenschaften der Orientierungslaute

Die Orientierungslaute der Flughunde der Gattung *Rousettus* sind explosionsartige Laute (Abb. 2); sie sind den Orientierungslauten der *Verspertilioniden* sehr ähnlich. Im Gegensatz zu den Lauten der meisten Mikrochiropteren bestehen sie aus einem für unser Ohr hörbaren Anteil und einem Ultraschallanteil (Möhres und Kulzer 1955).

Zur Registrierung der Orientierungslaute wurden 2 Methoden angewendet:

1. Der hörbare Anteil der Laute wurde mit einem Tonbandgerät (Grundig TK 830; Mikrophon GDM 121, Frequenzbereich 500 Hz bis 15 kHz) aufgezeichnet. Die Wiedergabe erfolgte über einen Elektronenstrahl-Oszillographen (Philips GM 5654). Hier wurden sie gefilmt und einer weiteren Analyse unterzogen.

2. Die Ultraschall-Anteile wurden über ein Seignettesalz-Kristallmikrophon (Firma Stegg & Reuter, Bad Homburg) registriert, dessen Frequenzbereich von 15—100 kHz reicht. Die Übertragung der Laute erfolgte über einen dreistufigen Röhrenverstärker direkt auf den Oszillographen.

Die *Dauer* der Orientierungslaute schwankt zwischen 2—5,5 ms (Möhres und Kulzer 1956, Novick 1958). Aufnahmen mit dem Grundig-Mikrophon ergaben einen Mittelwert von 5,4 ms, mit dem bei diesen Untersuchungen verwendeten Ultraschall-Mikrophon einen Mittelwert von 5,6 ms.

Die Orientierungslaute der Flughunde besitzen ein breites Frequenzspektrum. Ich habe mit Hilfe eines Frequenz-Analysators (Pimonow, Type Af nd Nr. 124) Frequenzspektrogramme ermittelt; der Abstand vom Mikrophon betrug 30 cm. Es ergab sich eine Zusammensetzung der Laute aus den Frequenzen von 5—40 kHz; verschiedentlich wurden noch Frequenzen bis zu 70 kHz gemessen.

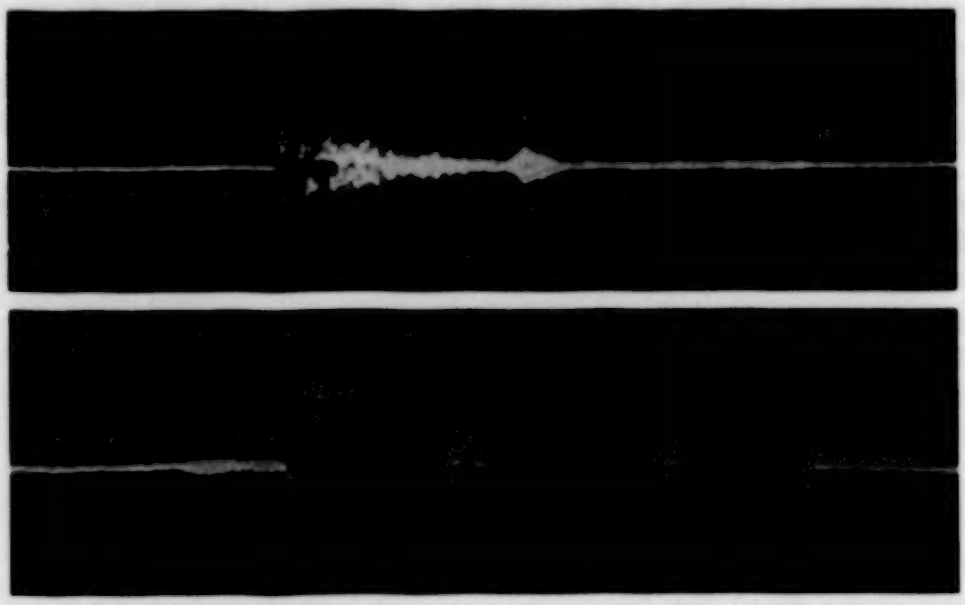

Abb. 2a u. b. Oszillogramme von 2 Orientierungslauten (zu lesen von links nach rechts). a Aufnahme über das Seignettesalz-Kristallmikrophon (Frequenzbereich 15—100 kHz). b Tonbandaufnahme über das Mikrophon GDM 121 (Frequenzbereich 500 Hz bis 15 kHz). Der Laut wurde durch Verringerung der Bandgeschwindigkeit bei der Wiedergabe gedehnt

Eine genauere Analyse des hörbaren Anteils gelang durch Tonbandaufnahmen, die mit niedriger Wiedergabegeschwindigkeit auf den Oszillographen übertragen und gefilmt wurden (Abb. 2). Dabei ergab sich für das Hauptsegment (= hohes Amplitudensegment) eines Lautes eine mittlere Dauer von 0,8 ms und eine mittlere Frequenz von 14 kHz. Die Frequenz des Hauptsegmentes im Ultraschallbereich wurde durch photographische Einzelbildregistrierung bei hoher Kippfrequenz des Elektronenstrahls ermittelt. Sie beträgt etwa 30 kHz.

Eine genaue Messung der *Schall-Intensität* der Laute war für die Fragestellung nicht erforderlich. Da die Laute der *Vespertilioniden* denen der Flughunde sehr ähnlich sind, habe ich beide unter gleichen Versuchsbedingungen verglichen. Dabei zeigte sich, daß die Laute der Flughunde im Ultraschallbereich etwas schwächer sind als die der *Vespertilioniden*.

C. Untersuchungen in der Kehlkopf-Region

Die große Ähnlichkeit der Orientierungslaute von *Vespertilioniden* und von Flughunden der Gattung *Rousettus* legte die Vermutung nahe,

daß auch bei den Flughunden trotz der erheblichen systematischen Unterschiede der Kehlkopf zur Erzeugung der Orientierungslaute dient (MÖHRES und KULZER 1956). Die Lage des Kehlkopfes sprach entschieden für diese Hypothese, obwohl gegenüber den *Vespertilioniden* ein grundlegender Unterschied besteht: Ähnlich wie bei den *Rhinolophiden* ist auch der Kehlkopfeingang von *Rousettus* verlängert; er liegt mit seinem oberen Rand der Gaumenöffnung dicht an und verschließt sie fast völlig. Dadurch wird der Atemluft und entsprechend auch den im Kehlkopf erzeugten Lauten ein fester Weg gewiesen. Die Verbindung zwischen Kehlkopfeingang und Gaumen ist so gut, daß ein Tier, dem man die Nasenlöcher zuhält, sofort in Atemnot gerät und nur mühsam und röchelnd den Luftbedarf durch das geöffnete Maul decken kann. Funktionell betrachtet, stehen die Flughunde damit den *Rhinolophiden*, die ihre Orientierungslaute durch die Nasenlöcher aussenden, nahe. Zahlreiche photographische Aufnahmen von peilenden Flughunden zeigten ferner, daß das Maul dabei nie weiter als zu einem schmalen Spalt geöffnet ist. Dies sprach ebenfalls für eine Lautaussendung über den Nasenweg. Eine endgültige Antwort auf die Frage, ob der Kehlkopf das erzeugende Organ der Orientierungslaute ist, konnte erst gegeben werden, wenn 1. die Struktur des Kehlkopfes genau bekannt war und 2. die Erzeugung der Laute im Kehlkopf ausgeschaltet oder beeinflußt werden konnte.

I. Untersuchungen über die Morphologie des Kehlkopfes

Es gibt nur wenige morphologische Untersuchungen über den Kehlkopf der Chiropteren. Die Arbeit von ELIAS (1907) umfaßt nur Mikrochiropteren. Eine kurze Beschreibung des Kehlkopfes von *Eptesicus fuscus* hat GRIFFIN (1958) gegeben. Eine Untersuchung über die Struktur des *Larynx* von Flughunden der Gattung *Epomophorus* wurde von DOBSON (1881) veröffentlicht. Er beschrieb die enge Verbindung zwischen Kehlkopf und innerer Nasenhöhle. Nach Untersuchungen von MATSCHIE (1899) und von LANG und CHAPIN (1917) ist der Kehlkopf von *Hypsignathus monstrosus* (Hammerkopf-Flughund) nahezu halb so lang wie die Wirbelsäule. Die vorliegenden Arbeiten waren als Unterlagen für operative Eingriffe am Kehlkopf von *Rousettus* nicht geeignet, zumal über die genaueren Innervationsverhältnisse nichts bekannt ist. Es war deshalb nötig, zuerst den Bau des Kehlkopfes zu untersuchen. In der Bezeichnung der einzelnen Strukturen folgte ich den in der menschlichen Anatomie und der vergleichenden Anatomie gebräuchlichen Namen. Für diese Untersuchung wurden nur Tiere der Art *Rousettus aegyptiacus* verwendet.

1. Begrenzung der Kehlkopf-Region. Der Kehlkopf eines erwachsenen Flughundes mißt median von seiner Unterkante am Ringknorpel bis zur oberen Kante des Schildknorpels (ventral) 5—6 mm (Abb. 3a). Seine größte Breite erreicht er auf Höhe des unteren Zungenbeinhornes mit 4—5 mm[1]. Sein Eingang ragt wie eine kurze Röhre in die Gaumen-

[1] Die dorsalen Verlängerungen des Zungenbeines wurden als kraniale (obere) und kaudale (untere) Hörner bezeichnet.

öffnung. Die Zunge ist vom Kehlkopfeingang durch eine tiefe Furche getrennt; diese führt beiderseits vom Kehlkopf als Schlingfurche zum Speiseröhrentrichter. Der Kehlkopfeingang wird durch die *Epiglottis* und durch je einen stark verlängerten Hornknorpel *(Cart. corniculata)* gebildet. Das Atemrohr ist somit von der Gaumenöffnung bis zur Trachea versteift; es bildet mit den oberen Atemwegen ein nahezu geschlossenes System. Die Gaumenöffnung umschließt den Kehlkopfeingang mit einem Ringwulst. Die *Epiglottis* ist leicht dorsalwärts geneigt und liegt mit einer zapfenartigen Verdickung diesem Ringwulst an. Der seitliche Rand des Kehlkopfeinganges ist tief eingebuchtet. Die beiden kaudalen Hörner des Zungenbeines, die durch Gelenke mit dem Schildknorpel verbunden sind, verankern den Kehlkopfeingang und bilden seine äußere Grenze.

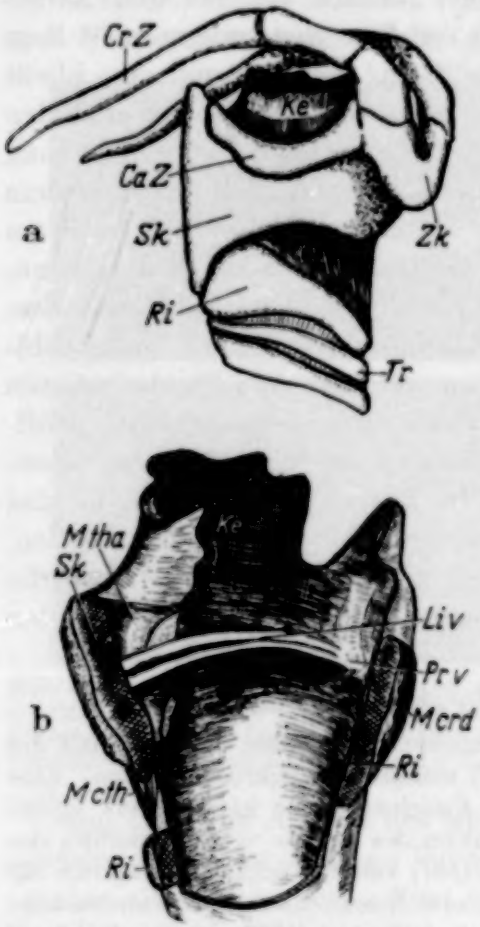

Abb. 3. a Kehlkopf und Zungenbein lateral. b Kehlkopf gefenstert. *Ke* Kehlkopfeingang, *Zk* Zungenbeinkörper, *Cr Z* und *Ca Z* kraniales und kaudales Zungenbeinhorn, *Sk* Schildknorpel, *Ri* Ringknorpel, *Tr* Trachea, *Pr v Proc. vocalis, Li v Ligamentum vocale, M tha M. thyreoarytaenoideus, M cth M. cricothyreoideus, M crd M. cricoarytaenoideus dorsalis*

2. Das Kehlkopfgerüst. Der Ringknorpel besitzt auch bei Flughunden die Gestalt eines Siegelringes (Abb. 3a). Seien Öffnung zur Trachea hat einen Durchmesser von 3,2—3,9 mm. Die dorsale Fläche des Knorpels ist bis zu 3,5 mm hoch und überragt den schmalen Reif einseitig nach oben. Der Schildknorpel besitzt zwei große Seitenflächen. Seine Oberkanten sind mit den kaudalen Zungenbeinhörnern straff verbunden. Die Stellknorpel lassen sich auf den Gelenkflächen des Ringknorpels bewegen. Die Höhe der Stellknorpel und der Hornknorpel *(Cart. corniculata)* beträgt beim erwachsenen Tier bis zu 3,1 mm.

3. Die funktionellen Einheiten des Stimmapparates. *Die Stimmlippen.* GRIFFIN (1958) hat bei seinen Untersuchungen am Kehlkopf von *Vespertilioniden* rechnerisch nachgewiesen, daß die Stimm-Membranen die mechanischen Eigenschaften zur Erzeugung von Ultraschall besitzen. Er vergleicht sie mit elliptischen Trommelfellen von zwei eng beisammenliegenden Kesselpauken von dem Ausmaß 0,5 × 2,0 mm und einer Dicke von 0,2 mm. Er vermutet, daß die Muskeln des Kehlkopfes die Spannung der beiden Membranen regulieren und dadurch Laute von hoher Frequenz erzeugen können.

Die Stimmlippen von erwachsenen Flughunden besitzen eine Länge bis zu 2,8 mm; am toten Tier lassen sie sich bis zu 3,3 mm dehnen. Das ganze Stimmband ist durch eine unterschiedlich tiefe Furche geteilt,

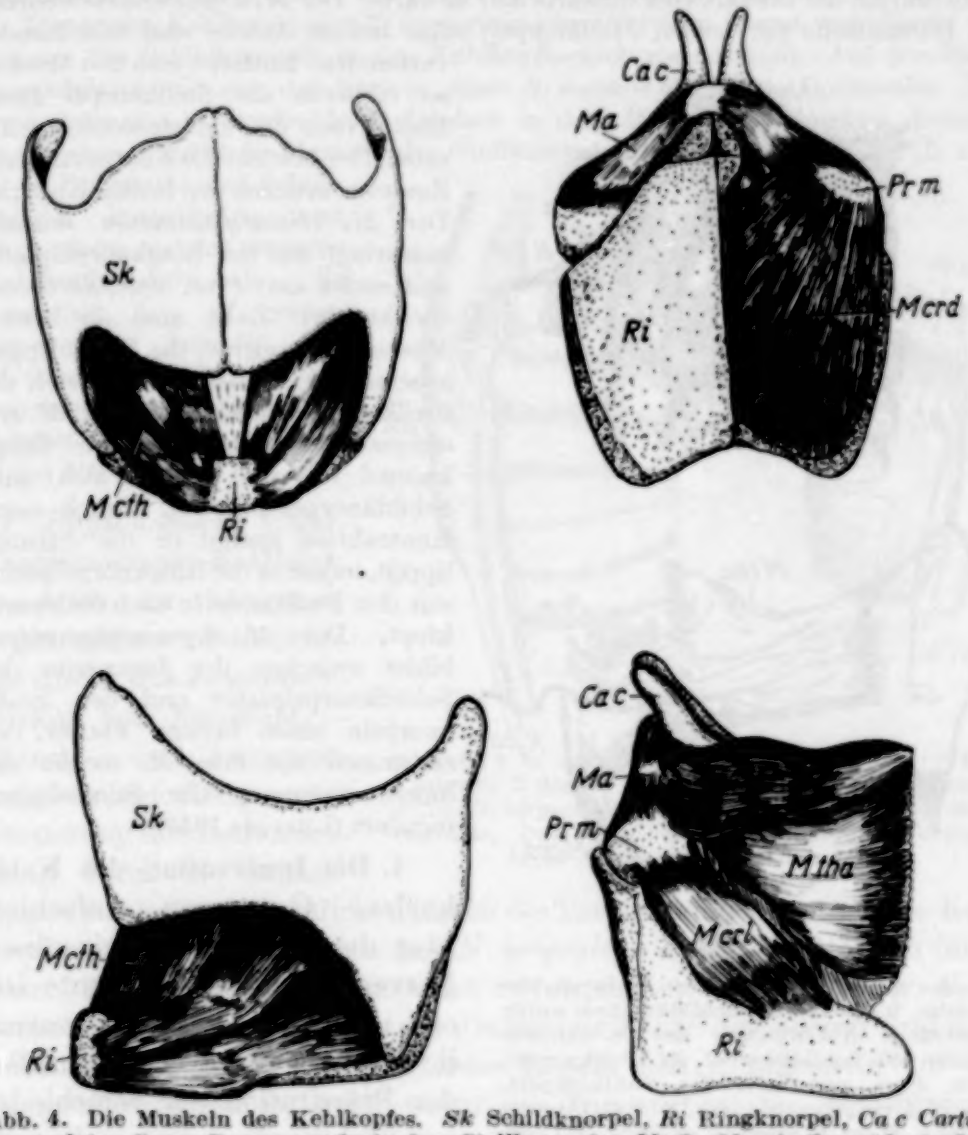

Abb. 4. Die Muskeln des Kehlkopfes. *Sk* Schildknorpel, *Ri* Ringknorpel, *Ca c Cartilago corniculata*, *Pr m Proc. muscularis* des Stellknorpels, *M cth M. cricothyreoideus*, *M crd M. cricoarytaenoideus dorsalis*, *M tha M. thyreoarytaenoideus*, *Ma M. arytaenoideus*, *M crl M. cricoarytaenoideus lateralis*

die den Eindruck einer doppelten Stimmlippe verursacht (Abb. 3b). Die schmale Stimmritze erweitert sich zwischen den Stellknorpeln zu einem Dreieck.

Die Stell- und Spanneinrichtungen der Stimmbänder. Über den Stell- und Spannmechanismus gibt es keine genaueren Untersuchungen. Aus der auffallend starken Entwicklung der Muskeln zwischen Ring- und Schildknorpel bei *Vespertilioniden* schloß GRIFFIN (1958), daß diese Muskeln die beiden Stimm-Membranen spannen und die Stimmritze zur Lauterzeugung verengern.

Die Untersuchung der Stell- und Spannmuskeln am Flughundkehlkopf ergab folgendes Bild (Abb. 4): Der *M. cricoarytaenoideus lateralis* verbindet den Reif des Ringknorpels mit dem *Proc. muscularis* der Stellknorpel. Er dreht durch seine Kontraktion die Stellknorpel einwärts und abwärts. Der *M. arytaenoideus* bedeckt die Dorsalfläche der beiden Stellknorpel; seine beiden Anteile sind miteinander verbunden. Entfernt man den Muskel, so verlieren die Stellknorpel ihren Halt. Nach den Untersuchungen am toten Tier bewirkt die Kontraktion ein Zusammenrücken der beiden Knorpel. Der *M. cricoarytaenoidues dorsalis* entspringt auf der Ringknorpelplatte und endet am *Proc. muscularis* der Stellknorpel. Zieht man an beiden Muskeln, so weichen die Stimmlippen auseinander. Dabei bewegen sich die Stellknorpel dorsalwärts. Der *M. cricothyreoideus* entspringt am Ringknorpel reif und fächert sich zum Schildknorpel hin auf. Durch seine Kontraktion spannt er die Stimmlippen, indem er die Ringknorpelplatte mit den Stellknorpeln nach rückwärts kippt. Der *M. thyreoarytaenoideus* bildet zwischen der Innenseite der Schildknorpelplatte und den Stellknorpeln einen breiten Fächer, der zusammen mit dem *M. vocalis* die innere Spannung der Stimmlippen reguliert (LULLIES 1953).

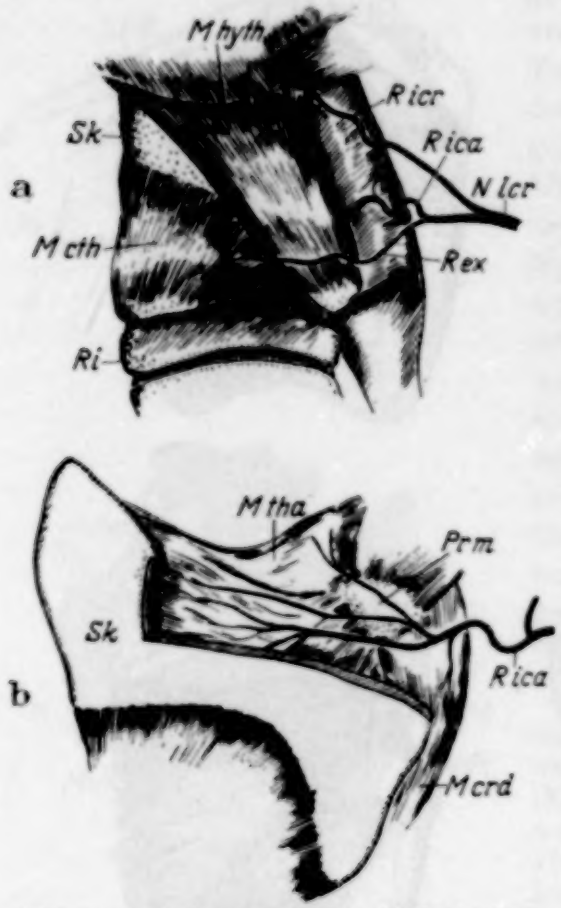

Abb. 5. a Aufzweigung des *N. laryngicus cranialis*. b Ein Teil des Schildknorpels wurde abgetragen: Aufzweigung des *R. internus caudalis*. *Sk* Schildknorpel, *Ri* Ringknorpel, *Pr m* *Proc. muscularis* des Stellknorpels, *N. lcr N. laryngicus cranialis*, *R icr R. internus cranialis*, *R ica R. internus caudalis*, *R ex R. externus*, *M hyth M. hyothyreoideus*, *M. cth M. cricothyreoideus*, *M. tha M. thyreoarytaenoideus*, *M crd M. cricoarytaenoideus dorsalis*

4. Die Innervation des Kehlkopfes. Genaueren Aufschluß über die Funktion der einzelnen Nerven und Muskeln konnte ich erst nach eingehender Kenntnis ihrer Topographie erwarten. Bei der Präparation der verschiedenen Kehlkopfnerven von *Rousettus* ergab sich folgendes Bild:

Der obere Kehlkopfnerv *(N. laryngicus cranialis)* wendet sich in einem ventrokaudalen Bogen zur Seite des Kehlkopfes und teilt sich in 3 Äste (Abb. 5). Der obere *(Ramus internus cranialis)* tritt unter dem kaudalen Zungenbeinhorn in die Kehlkopfregion ein. Er teilt sich auf der Kante des Schildknorpels und wendet sich mit einem Zweig dem Epiglottisabschnitt zu, mit einem anderen innerviert er Teile des *M. hyothyreoideus*. Der untere Ast *(Ramus internus caudalis)* tritt auf Höhe des *Proc. muscularis* des Stellknorpels unter den Schildknorpel ein. Er gibt einen kranialen Zweig an den *M. hyopharyngicus* und einen kaudalen Zweig an die Muskeln des mittleren Schlundabschnittes ab. Der größte Teil der Fasern führt unter der Schildknorpelfläche zum *M. thyreoarytaenoideus*. Eine Verbindung

zum unteren Kehlkopfnerven wurde nicht gefunden; es ist jedoch möglich, daß diese über sehr feine Ästchen besteht, die sich der Präparation entzogen. Ein weiterer Ast des oberen Kehlkopfnerven ist der *Ramus externus*; er entspringt aus dem *R. internus caudalis* und innerviert den *M. cricothyreoideus*.

Der untere Kehlkopfnerv *(N. laryngicus caudalis)* tritt dorsal vom *Cornu cricoideum* des Schildknorpels in den Kehlkopfbereich ein (Abb. 6). Auf der Ringknorpelplatte teilt sich der Nerv in einen *R. dorsalis* und einen *R. ventralis*. Der erste entsendet zahlreiche feine Ästchen in den *M. cricoarytaenoideus dorsalis*; eines davon erreicht die Muskeln der Stellknorpel. Der *R. ventralis* verläuft zwischen Ringplatte und Schildknorpel kranialwärts und biegt dann zu den inneren Kehlkopfmuskeln ein. Er innerviert den *M. cricoarytaenoideus lateralis*, den *M. vocalis* und den *M. thyreoarytaenoideus*. Eines der Ästchen steigt bis zur *Epiglottis* empor.

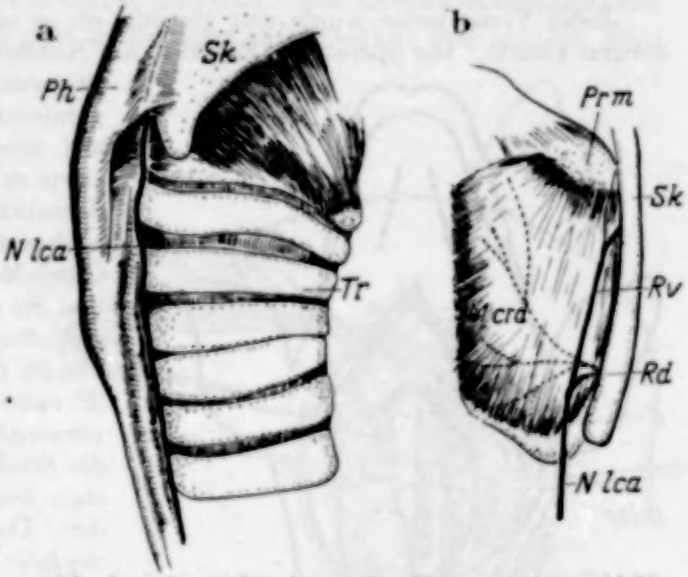

Abb. 6a u. b. Aufzweigung des *N. laryngicus caudalis*. a lateral, b dorsal. *Ph* Pharynx, *Sk* Schildknorpel, *N lca N. laryngicus caudalis*, *Rd R. dorsalis*, *Rv R. ventralis*, *Pr m Proc. muscularis* des Stellknorpels, *M crd M. cricoarytaenoideus dorsalis*

II. Physiologische Untersuchungen am Kehlkopf

Auch im Säugetierorganismus wird die Stimme durch das Zusammenwirken von Kehlkopf — Mund — und Atemmuskeln erzeugt. Die nervöse Steuerung der Lauterzeugung durch die Stimmlippen erfolgt im wesentlichen durch die Tätigkeit des *N. vagus*. Die Kehlkopfmuskeln werden durch den *N. laryngicus caudalis* motorisch innerviert. Der obere Kehlkopfnerv ist mit Ausnahme seines *R. externus* ein sensorischer Nerv und versorgt die Schleimhäute des oberen und mittleren Kehlkopfstockwerkes. Diese Regeln gelten allgemein für den Säugetierorganismus, auch wenn die Innervation bei verschiedenen Gruppen Unterschiede aufweist (Exner 1884, 1888a, b) und die stimmlichen Leistungen sehr verschieden sind.

Verletzungen der Kehlkopfnerven haben Störungen der Stimme zur Folge (Lullies 1953, Luchsinger und Arnold 1959). Eine Durchschneidung der unteren Kehlkopfnerven lähmt die Spann- und Stellmuskeln mit Ausnahme des vom *R. externus* des oberen Kehlkopfnerven versorgten *M. cricothyreoideus*. Beim Menschen zeigen die Stimmstörungen ein wechselvolles Bild und reichen von schwerer Heiserkeit und Flatterstimme bis zu völliger Aphonie. Verletzt oder durchschneidet man den oberen Kehlkopfnerven, so treten Störungen in der Phonation und der Sensibilität des Kehlkopfes ein.

Die folgenden Versuche sollten zeigen, welche Muskeln und Nerven des Kehlkopfes möglicherweise an der Erzeugung der Orientierungslaute beteiligt sind.

Methode. Bei einem Forschungsaufenthalt in Ägypten konnte ich eine größere Anzahl von Flughunden der Art *Rousettus aegyptiacus* fangen. Die folgenden Untersuchungen wurden in den Laboratorien des Department of Medical Zoology des U.S. NAMRU Nr. 3 in Kairo, sowie an Tieren, die ich mit nach Tübingen brachte, durchgeführt.

Jedes Versuchstier wurde erst geprüft, ob es normale Orientierungslaute erzeugen konnte. Die operativen Eingriffe am Kehlkopf erfolgten unter dem Zeiss-Stereomikroskop. Sie verliefen folgendermaßen: Ich schnallte das Tier auf einen Operationstisch, narkotisierte es und zog sodann seinen Kopf dorsalwärts, wodurch der schon vorher enthaarte Hals gestreckt wurde. Durch einen Medianschnitt wurde die Haut und die darunterliegenden Halsfaszien gespalten und die beiden Muskelbänder des *M. sternohyoideus* und des *M. omohyoideus* bis zum Zungenbein voneinander getrennt. Nun konnte die Schilddrüse seitlich von der Trachea freigelegt und abgedrängt werden. Der Zugang zum *N. laryngicus caudalis* und zum *N. laryngicus cranialis* ist damit frei (Abb. 7). Der Wundverschluß erfolgte mit Naht oder durch Klammern. Nach wenigen Stunden hatte sich die Wunde in der Regel schon gut geschlossen; in 3—4 Tagen war sie völlig verheilt. Die Tiere wurden während der Versuche in Einzelkäfigen gehalten. Über eine längere Zeitdauer, mindestens bis zur völligen Gesundung, wurde die Erzeugung der Orientierungslaute täglich am Oszillographen geprüft.

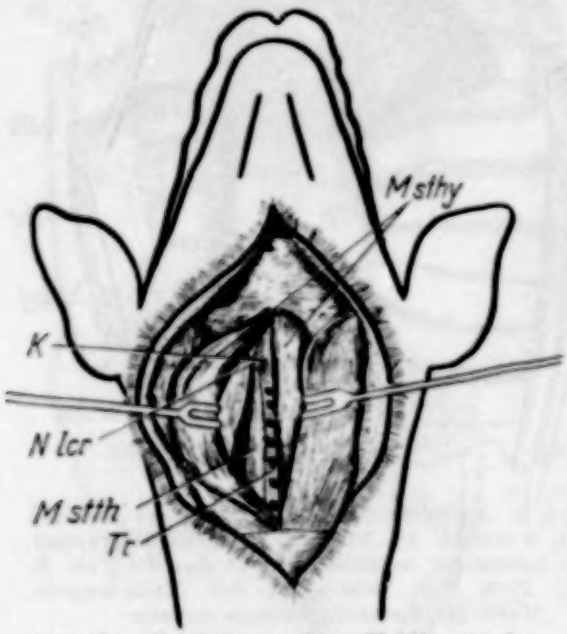

Abb. 7. Freilegung der Kehlkopfregion. *M sthy M. sternohyoideus, M stth M. sternothyreoideus, Tr* Trachea, *N lcr N. laryngicus cranialis, K* Kehlkopf

1. Durchtrennung der Kehlkopfnerven. GRIFFIN (1952) durchtrennte bei *Myotis lucifugus* die oberen Kehlkopfnerven und stellte daraufhin einen Frequenzabfall in den Orientierungslauten bis auf etwa 10 kHz fest. Nach diesem Ergebnis spielt der *M. cricothyreoideus*, der vom äußeren Ast des oberen Kehlkopfnerven motorisch innerviert wird, bei der Lauterzeugung eine wichtige Rolle. Ich habe deshalb an 4 Flughunden erst den *R. externus* des oberen Kehlkopfnerven unmittelbar nach seinem Ursprung durchtrennt. Dabei wurde stets ein kurzes Stück des Nerven entfernt, um zu verhindern, daß sich die Enden noch berühren konnten. Die Prüfung der Orientierungslaute erfolgte sofort nach den Eingriffen und wurde während der Gesundung 5 Tage lang wiederholt. In allen Versuchen blieben die Laute unverändert.

Daraufhin habe ich an vier weiteren Tieren die ganzen oberen Kehlkopfnerven noch vor ihrer Aufzweigung in Einzeläste durchtrennt. Auch diese Tiere erzeugten nach der Operation normale Orientierungslaute. Die Kontrolle erstreckte sich über 10 Tage.

Da die Verletzung des unteren Kehlkopfnerven beim Menschen und bei einer Reihe von Säugetieren die Lähmung wichtiger an der Stimmbildung beteiligter Muskeln zur Folge hat, schien mir eine Störung der Orientierungslaute hier am ehesten möglich. Der untere Kehlkopfnerv ist bei Flughunden schnell und sicher nur unmittelbar vor seinem Eintritt in den Kehlkopf aufzufinden. Ich habe 6 Tieren an dieser Stelle entweder ein- oder beidseitig die Nerven durchtrennt. In allen Versuchen erzeugten die Tiere nach der Operation normale Orientierungslaute. Nur bei einem Tiere waren die Laute kurze Zeit nach dem Eingriff sehr leise, was aber auf den Schwächezustand nach der Narkose zurückgeführt werden kann. Nach wenigen Tagen hatte sich das Tier wieder erholt und erzeugte normale Orientierungslaute. Die Kontrolle erstreckte sich bei diesen Versuchen über 11 Tage.

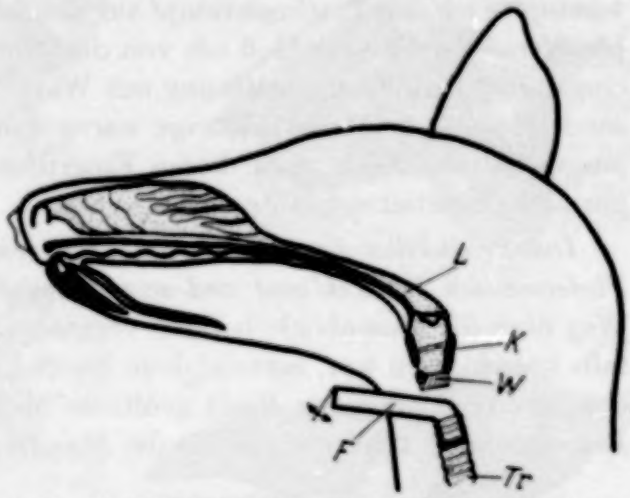

Abb. 8. Umleitung des Atemluftstromes über eine Trachealfistel. *L* Luftwege der inneren Nasenhöhle, *K* Kehlkopf, *W* Wattepfropf im Kehlkopfstumpf, *Tr* Trachea, *F* Fistel

Ergebnis. Die Durchtrennung der verschiedenen Kehlkopfnerven hat bei Rousettus aegyptiacus keinen entscheidenden Einfluß auf die Produktion der Orientierungslaute. Die operierten Tiere erzeugten nach allen Versuchen noch normale Orientierungslaute.

Nach diesem überraschenden Ergebnis mußte die Frage gestellt werden, ob die Laute wirklich im Kehlkopf entstehen. Diese Frage konnte auf operativem Wege eindeutig entschieden werden.

2. Umleitung des Atemluftstromes über eine Trachealfistel. Um zu prüfen, ob die Orientierungslaute durch den aus der Trachea kommenden und die Stimmlippen anblasenden Luftstrom entstehen, habe ich die Trachea vom Hals her in der üblichen Weise freigelegt und unterhalb vom Kehlkopf zwischen 1. und 2. Trachealring durchschnitten. In den von den Lungen herkommenden Stumpf der Trachea habe ich sodann ein gebogenes Glasröhrchen eingeführt und fest mit ihm verbunden. Die Operationswunde wurde vernäht; nur das Atemröhrchen ragte durch

die Wunde nach außen. Der Wechsel des Atemluftstromes konnte mit einem Stückchen Papier, das an der Öffnung der Fistel befestigt war, genau verfolgt werden. Der Kehlkopf war damit ganz aus dem Luftwege ausgeschaltet und konnte für die Lauterzeugung keine Rolle mehr spielen (Abb. 8). Als das Tier aus der Narkose erwachte, brachte ich es sofort vor das Mikrophon. Das Ergebnis war eindeutig: Das Tier erzeugte normale Orientierungslaute.

Drei weiteren Tieren habe ich auf ähnliche Weise den Atemweg verlegt. Um dabei im Kehlkopf jeglichen Luftdurchgang zu vermeiden, verstopfte ich den Trachealstumpf am Kehlkopf mit einem festen Wattepfropfen. Ferner verschloß ich von der Mundhöhle aus den Kehlkopfeingang und die Gaumenöffnung mit Watte. Nicht nur der Kehlkopf, sondern auch die *oberen Luftwege* waren damit für die Lautproduktion ausgeschaltet. Auch nach diesen Eingriffen erzeugten die Tiere noch normale Orientierungslaute.

Die Produktion der Orientierungslaute erfolgt somit nicht wie bei den Fledermäusen im Kehlkopf und seinen umgebenden Strukturen. Da der Weg über die Nasenhöhle bei den vorausgehenden Experimenten ebenfalls verschlossen war, bestand kein Zweifel mehr, daß die Laute durch das zu einem schmalen Spalt geöffnete Maul ausgesandt werden. Als Erzeugungsort konnte somit nur die *Mundregion* in Frage kommen.

D. Untersuchungen in der Mundregion

1. Untersuchungen über die Morphologie der Mundregion

Um eine Vorstellung von den für die Lauterzeugung wichtigen Strukturen zu bekommen und unter dem Gesichtspunkt späterer operativer Eingriffe, habe ich erst die morphologischen Verhältnisse der Mundregion von *Rousettus aegyptiacus* untersucht. In der Bezeichnung der Strukturen folgte ich den in der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere gebräuchlichen Namen (ELLENBERGER-BAUM 1943; BOLK, GÖPPERT, KALLIUS und LUBOSCH 1933).

1. Die Muskeln des Mundbodens und der Zunge. *a) Regio submandibularis* (Abb. 9). Der *M. biventer mandibulae* entspringt an der *Pars mastoidea* des Schläfenbeines und am *Proc. jugularis* des Hinterhauptbeines. Auf der *Bulla ossea* teilt er sich; der seitliche Abschnitt entsendet Fasern bis auf die Außenseite der Mandibel. Der zweite innere Abschnitt wendet sich dem Zungenbein zu; seine Fasern vereinigen sich mit dem von der Gegenseite kommenden Muskel. Der seitliche Abschnitt unterstützt durch seine Kontraktion das Öffnen der Kiefer; der innere Abschnitt hebt die Kehlkopfregion und den Mundboden.

Der *M. mylohyoideus* entspringt an der Innenseite der Mandibel und vereinigt sich in der Medianlinie mit den von der Gegenseite kommenden Muskelfasern. Der Muskel ist nach unten gemuldet, so daß der Mundboden einer langgestreckten Wanne gleicht, von der die Zunge getragen wird. Kontrahiert sich der Muskel, so wird der Mundboden und die Zunge angehoben.

b) Regio lingualis und Regio sublingualis. Die Zunge ist ein langes lanzettförmiges Organ (Abb. 10—11). Ihr Mittelabschnitt ist stark emporgewölbt. Von der Spitze bis zur Schlingfurche mißt die Zunge eines erwachsenen Tieres bis zu 3 cm; an ihrer Wurzel ist sie 9—13 mm breit und 6 mm hoch. Fast die gesamte Zungenoberfläche ist mit verhornten Papillen besetzt, die nach rückwärts gerichtete kleine Stacheln besitzen. Die innere Feinstruktur der Zunge wurde histologisch untersucht; es

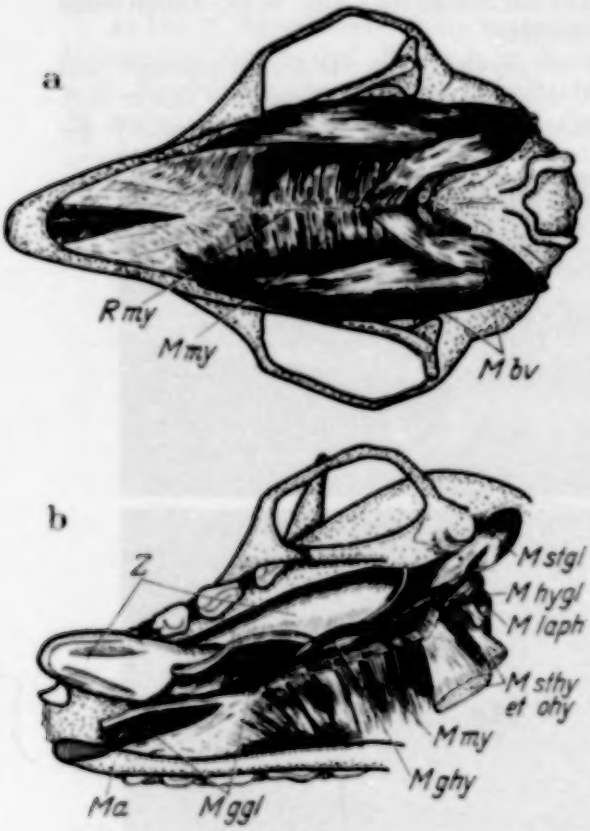

Abb. 9

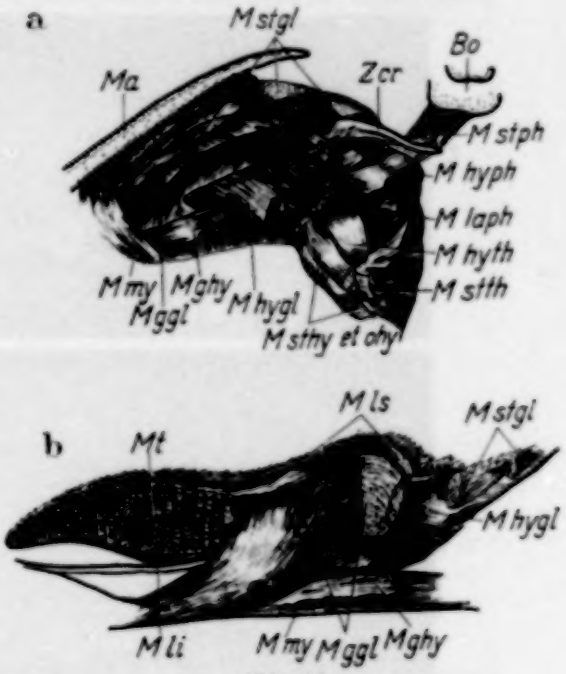

Abb. 10

Abb. 9a u. b. Die Muskeln des Mundbodens: a *Regio submandibularis*, b die Zunge von der *Regio submandibularis* aus zur Hälfte freigelegt. *Z* Zunge, *R my Raphe mylohyoidea*, *M my M. mylohyoideus*, *M bv M. biventer mandibulae*, *M stgl M. styloglossus*, *M hygl M. hyoglossus*, *M. laph M. laryngopharyngicus*, *M sthy et ohy M. sterno- et omohyoideus*, *M. ghy M. geniohyoideus*, *M. ggl M. genioglossus*, *Ma Mandibula* (im Unterkieferwinkel gespalten und zur Hälfte abgetragen)

Abb. 10a u. b. Die Muskeln der Zunge und der Hyoidregion. a *M. mylohyoideus* gefenstert; Teile des *M. hyoglossus* und des *M. geniohyoideus* abgetragen. b Medianschnitt durch die Zunge. *Ma Mandibula*, *Bo Bulla ossea*, *Z cr* Kraniales Zungenbeinhorn, *M stgl M. styloglossus*, *M stph M. stylopharyngicus*, *M hyph M. hyopharyngicus*, *M laph M. laryngopharyngicus*, *M hyth M. hyothyreoideus*, *M stth M. sternothyreoideus*, *M sthy et ohy M. sterno- et omohyoideus*, *M hygl M. hyoglossus*, *M ghy M. geniohyoideus*, *M my M. mylohyoideus*, *M ggl M. genioglossus*, *M li M. longitudinalis inferior*, *M ls M. longitudinalis superior*, *M t M. transversus linguae*

ergaben sich dabei keine wesentlichen Unterschiede gegenüber den von anderen Säugetieren bekannten Strukturen. Die Muskeln der *Regio lingualis* und der *Regio sublingualis* lassen sich nicht scharf voneinander trennen.

Der *M. geniohyoideus* (Abb. 9) entspringt im vorderen Unterkieferwinkel mit einer bandförmigen Sehne, die sich in der Medianlinie mit der Sehne des gegenüberliegenden Muskels trifft. Beide inserieren an den oberen Hörnern des Zungenbeines und bewirken durch ihre Kontraktion ein Anheben der Kehlkopfregion.

Der *M. genioglossus* (Abb. 9) entspringt ebenfalls im vorderen Kieferwinkel. Seine Fasern richten sich auf Höhe des *Frenulum linguae* steil gegen den Zungen-

rücken auf und senken sich in die Muskulatur der Zunge ein. Der Muskel begrenzt die Vorwärtsbewegung der Zunge; wenn er sich kontrahiert, senkt sich die Zunge auf den vorderen Mundboden.

Der *M. hyoglossus* entspringt am oberen Zungenbeinhorn und am Zungenbeinkörper und zieht in die seitliche Muskulatur der Zunge ein (Abb. 10a). Durch seine Kontraktion zieht er die Zunge nach rückwärts.

Der *M. styloglossus* entspringt am *Proc. jugularis* des Hinterhauptbeines und an der *Pars mastoidea* des Schläfenbeines. Kurz nach seinem Ursprung teilt er sich in 3 Abschnitte; er inseriert am Zungenbein und dringt in die Seitenwand der

Abb. 11a u. b. Zunge, Schlund und Kehlkopf: a seitlich, b Zungenrücken mit Gaumenöffnung und Kehlkopfeingang

Zunge ein (Abb. 10a). Die Aufteilung des Muskels läßt auf eine vielseitige Funktion schließen. Zieht man an seinem dorsalen Ende, so folgt die ganze Zunge nach rückwärts.

2. Das Zungenbein. Die Basis des Zungenbeines besteht aus einer U-förmigen Platte. Diese trägt, durch Gelenke verbunden, die beiden längeren oberen und die beiden kürzeren unteren Hörner (vgl. Abb. 3). Letztere bewirken den Zusammenhalt mit dem Kehlkopf; sie sind straff mit der Oberkante des Schildknorpels verbunden. Der Bewegungsspielraum des Zungenbeines ist dadurch stark eingeschränkt, seine Stabilität gegenüber der Zunge aber wesentlich erhöht. In seiner Gesamtheit dient das Zungenbein zur Verankerung der Zunge und des Kehlkopfes an der Schädelbasis.

Neben den zum Mundboden und in die Zunge einziehenden Muskeln inserieren am Zungenbein eine Reihe für die elastische Aufhängung des gesamten Stimmapparates wichtige Muskeln.

3. Die Nerven der Zunge, des Mundbodens und der Hyoidregion. Eine genaue Kenntnis der Innervationsverhältnisse war für die folgenden Ausschaltungsexperimente unerläßlich. In der Bezeichnung der Nerven

folgte ich den Namen aus der Vergleichenden Anatomie (ELLENBERGER-BAUM 1943); war dies nicht möglich, so habe ich die Nerven nummeriert oder nach den Muskeln benannt, die sie versorgen (Abb. 12).

a) Der *N. hypoglossus* ist ein motorischer Nerv. Er innerviert Teile des Mundbodens und der Zunge. Er biegt in der Furche zwischen *M. biventer mandibulae* und *M. sternohyoideus* in die Mundbodenregion ein, zieht dann zwischen dem *M. styloglossus* und dem *M. geniohyoideus* oralwärts und gibt dabei 2 Ästchen *(R. hyoglossus I, II)* ab. In oraler Richtung entspringen aus dem *N. hypoglossus*

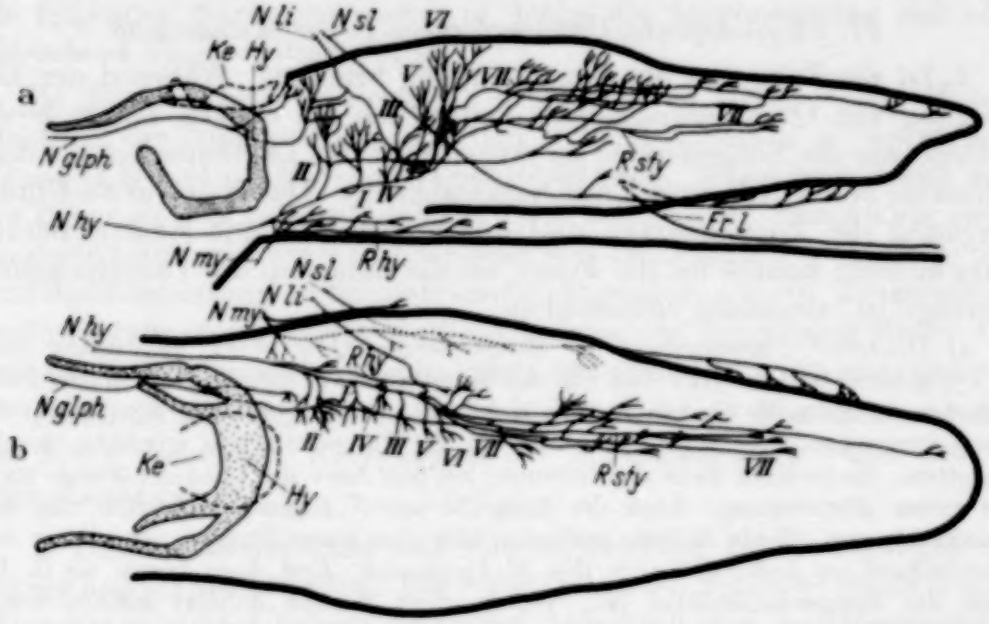

Abb. 12a u. b. Schema der Zungeninnervation: a lateral, b von oben. *Ke* Kehlkopfeingang, *Hy* Zungenbein, *Fr l Frenulum linguae*, *N hy N. hypoglossus*, *N li N. lingualis*, *N sl N. sublingualis*, *N. my N. mylohyoideus*, *N glph N. glossopharyngicus (R. lingualis)*, I—VII Äste des *N. hypoglossus*, *R hy R. hyoglossus* und *R sty R. styloglossus* des *N. hypoglossus*

zwei weitere Ästchen, die in die aufsteigenden Fasern des *M. genioglossus (R. genioglossus I, II)* eintreten. Der Nerv überschreitet sodann den *M. hyoglossus* in Richtung zum Zungenkörper; hier entspringen wiederum Zweige, der *R. genioglossus III* und *IV*. Unmittelbar vor dem Bogenstück des Nerven entspringt der *R. genioglossus V*. Seine Ästchen dringen fast senkrecht in den *M. genioglossus* ein; sie innervieren den Zungengrund. In oraler Richtung teilt sich der Nerv sodann in drei starke Äste, den *R. genioglossus VI* und *VII* und den *R. styloglossus*. Alle Äste führen steil zum Zungenrücken empor.

b) Der *N. lingualis* ist der sensorische Zungennerv; er tritt kurz nach Abzweigung des *N. sublingualis* in die Mundbodenregion ein, zieht über die breite Fläche des *M. styloglossus* hinweg und biegt mit einer S-förmigen Schlinge in die Furche zwischen *M. styloglossus* und *M. genioglossus* ein. Er folgt in seinem Verlaufe dem *M. styloglossus* und zweigt sodann in drei starke und ein dünnes Ästchen auf, die den Rücken des vorderen Zungenabschnittes innervieren.

c) Der *N. sublingualis* ist ebenfalls ein sensorischer Nerv und versorgt den Mundboden und Teile der Zungenseitenwand. Er verläuft am *M. styloglossus* entlang und teilt sich vor der *Glandula sublingualis* in zahlreiche Ästchen auf.

d) Der *N. glossopharyngicus* ist ein sensorischer Nerv und innerviert Teile der Zungenwurzel und des Schlundes. Sein *R. lingualis* zieht median vom *M. styloglossus* in die Zungenbeinregion ein und durchbricht diese wieder unter dem Gelenk des oberen Zungenbeinhornes.

e) Der *N. mylohyoideus* ist ein gemischter Nerv und versorgt die Muskeln des submandibularen Raumes. Er entspringt auf der Innenseite der Mandibula aus dem *N. alveolaris mandibularis*. Auf dem *M. mylohyoideus* teilt er sich in sechs annähernd gleich starke Äste; einer davon zieht zu den Kaumuskeln, ein zweiter zum *M. biventer mandibulae*; die anderen verlaufen medianwärts in den *M. mylohyoideus*.

II. Physiologische Untersuchungen in der Mundregion

1. Ist die Zunge an der Lauterzeugung beteiligt? Während der Erzeugung von Orientierungslauten konnte ich bei einigen Tieren beobachten, wie die Zungenspitze im Augenblick der Lautemission aus dem schmalen Mundspalt etwa 1 mm herausschnellt. Durch operative Unterbrechung der Zungennerven und durch Versuche mit lokalen Betäubungsmitteln konnte ich die Frage, ob die Zunge an der Lauterzeugung beteiligt ist, eindeutig entscheiden.

a) Operative Unterbrechung der Zungennerven. Der operative Zugang zum *N. hypoglossus* ist vom Hals und von der Mundhöhle aus möglich. Im ersten Falle verliefen die Eingriffe ähnlich wie am Kehlkopf. Dabei wurde der Nerv auf Höhe seines ventrokaudalen Bogens, noch ehe er die Zungenmuskeln erreichte, durchschnitten. Im zweiten Falle durchtrennte ich den Nerv direkt in der Zunge noch vor seiner Abzweigung. Auch die Eingriffe am *N. lingualis* erfolgten von der Mundhöhle aus. Beide Nerven verlaufen hier eine kurze Strecke nahe unter der Schleimhaut am äußeren Rande des *M. hyoglossus*. Erst dann treten sie in die Tiefe der Zungenmuskulatur ein. Durch einen flachen Schnitt können beide Nerven in der Zunge freigelegt werden.

An 5 Tieren habe ich den *N. lingualis*, an einem auch den *N. sublingualis* noch vor der Aufzweigung durchtrennt und dabei jeweils ein kurzes Stück des Nerven entfernt. Mit einer Ausnahme erzeugten die Tiere unmittelbar nach den Eingriffen normale Orientierungslaute. In dem Einzelfall handelte es sich um ein durch die Narkose besonders geschwächtes Tier, das erst nach mehreren Stunden wieder Laute hervorbrachte.

In den folgenden Versuchen wurde der *N. hypoglossus* entweder bei neu gefangenen Tieren oder bei Tieren, die bereits in den vorausgehenden Operationen benützt worden waren, durchtrennt. Bei letzteren hatte ich bereits den *N. lingualis* bzw. *sublingualis* unterbrochen. Alle Flughunde erzeugten *vor* den neuen Eingriffen normale Orientierungslaute. In 5 Versuchen habe ich den *N. hypoglossus* entweder rechts *oder* links durchtrennt. Die Erzeugung der Laute wurde dadurch geringfügig beeinflußt: Die Laute waren zwar deutlich, sie folgten jedoch unregelmäßig aufeinander und ihre Zahl pro Zeiteinheit (Wiederholungsrate) war verringert. In sieben weiteren Versuchen unterbrach ich den *N. hypoglossus* nun *beidseitig*. Das Ergebnis war überraschend: Keines der

Tiere konnte noch Orientierungslaute hervorbringen. Die Zunge blieb in ihren Bewegungen stark gehemmt; jedoch waren die Lähmungen nicht so vollständig, daß die Tiere nicht mehr fressen konnten. Ich habe sie zur Kontrolle noch mehrere Wochen im Laboratorium gehalten. Während dieser Zeit konnte ich niemals mehr Orientierungslaute registrieren.

b) Narkoseversuche. Beidseitige Durchtrennung des *N. hypoglossus* bedeutet für ein Tier einen nicht wiedergutzumachenden Verlust. Daß bei diesen Operationen die Muskeln nicht beschädigt wurden, zeigten die folgenden Narkoseversuche, in denen die Lauterzeugung nur *vorübergehend* ausgeschaltet wurde.

Zu diesem Zweck injizierte ich verschiedenen Tieren in den Mittelabschnitt des Zungenrückens (median) 0,25 ml Novocain + Suprareninlösung (1% und 0,0025%) zur Lokalanästhesie. Schon nach 1 min war die Zunge so weit gelähmt, daß die Tiere keine Orientierungslaute mehr erzeugen konnten. Zwei Stunden später war die Lähmung wieder beseitigt und die Tiere erzeugten normale Laute. Injektionen in die Zungenspitze beeinträchtigten die Lautproduktion dagegen nur in geringem Maße. Auf weitere Narkoseversuche wird in einem späteren Abschnitt eingegangen.

Damit ist klar, daß die Laute von der Zunge erzeugt werden und daß die hierzu notwendige Koordination der Muskelbewegungen über den N. hypoglossus erfolgt.

2. Direkte Beobachtung und Filmregistrierung der Bewegungen der Zunge und der Mundspalten. Die vorausgehenden Versuche ergaben wohl Hinweise aber noch keinen genaueren Aufschluß über den *Mechanismus* der Lauterzeugung. Ich habe deshalb versucht, aus direkten Beobachtungen und aus Filmregistrierungen eine Vorstellung vom Ablauf der einzelnen an der Lauterzeugung beteiligten Vorgänge zu gewinnen.

Zur direkten Beobachtung der Mund- und Zungenbewegungen waren nicht alle Tiere geeignet. Einige von ihnen peilten nicht mehr, sobald man sie in der Hand hielt; ihr ganzes Verhalten war auf Abwehr und Flucht eingestellt. Sie erzeugten ihre Orientierungslaute nur im freien Flug. Andere Tiere peilten nur bei Dunkelheit. Nur wenige handzahme Tiere produzierten die Laute bei Tageslicht regelmäßig. Eines davon erwies sich für die Beobachtungen besonders geeignet; es peilte, sobald man es auf und ab bewegte und öffnete den Mundspalt dabei besonders weit.

Während der Aussendung der Orientierungslaute konnte ich folgendes beobachten: Bevor man die Orientierungslaute hört, öffnet das Tier sein Maul auf jeder Seite zu einem schmalen Spalt. Im Augenblick der Lautemission schnellt die Zungenspitze 1—2 mm aus dem Maul heraus, um sogleich wieder am Mundboden zu verschwinden. Dieser Vorgang erfolgt so rasch, daß er mit dem Auge nicht weiter zu analysieren ist. Genaueren Aufschluß erhielt ich dagegen durch photographische Registrierung. Ich habe die Bewegungen der Zunge und des Mundes mit

hoher Bildgeschwindigkeit (64—80 Bilder/sec) gefilmt. Der große Zeitlupeneffekt ermöglichte hernach eine Zergliederung der Bewegungen in Einzelphasen. Zur zeichnerischen Auswertung wurden stark vergrößerte Kopien der Filmbilder hergestellt. Es gelang 27mal, die Bewegungen während der Lauterzeugung zu filmen; das Ergebnis sei in der folgenden Zusammenfassung wiedergegeben:

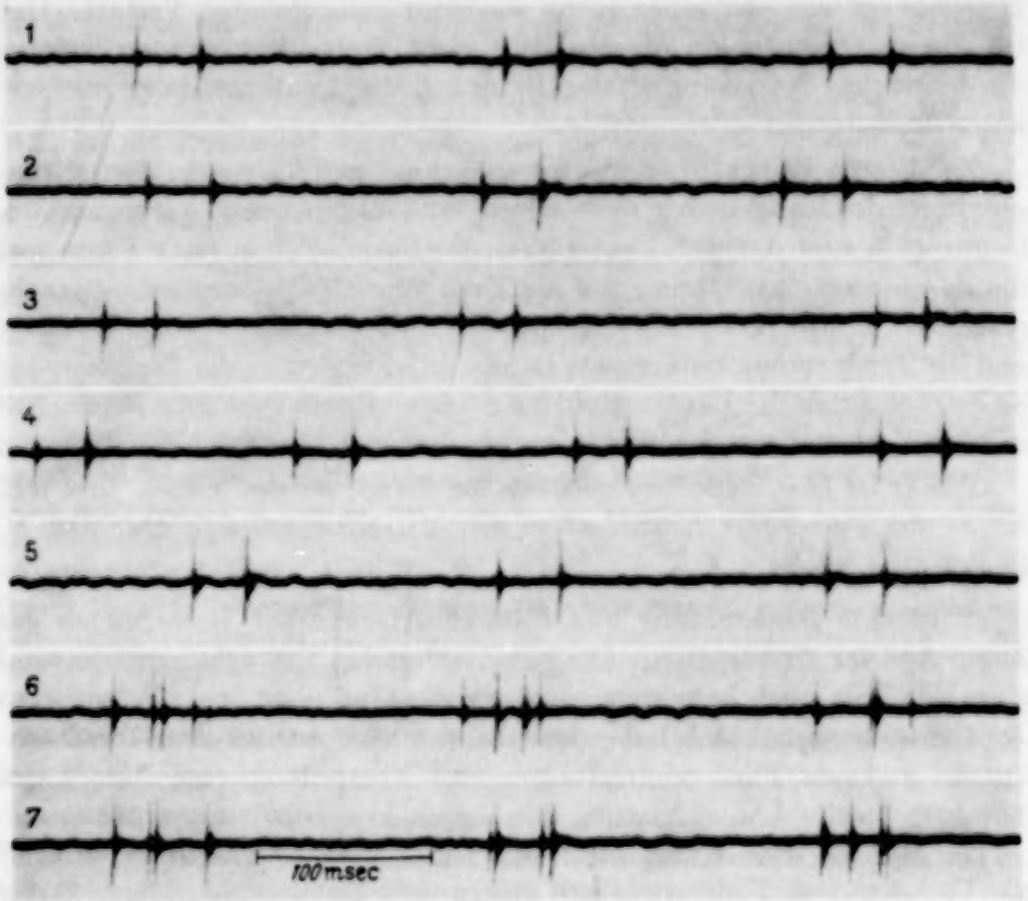

Abb. 13. Ausschnitte von den in Versuchen 1—7 registrierten Orientierungslauten: In allen Versuchen wurden charakteristische Doppellaute aufgezeichnet; in Versuch 6 und 7 peilen jeweils 2 Tiere

Im Ruhezustand liegen die Lippen seitlich aufeinander; unmittelbar vor der Lautaussendung erweitert sich der Abstand zwischen den Lippen zu einem unterschiedlich breiten Spalt. Der Zungenrücken wird sichtbar. In etwa 40 ms wölbt er sich empor. Dabei verläßt die Zungenspitze den Mundboden, stößt aus dem Maul heraus und sinkt anschließend wieder zurück (Dauer der rückläufigen Bewegung etwa 60 ms). Die Mundspalten schließen sich dabei wieder. Bei starker Zeitdehnung des Filmes erkennt man, daß zu den geschilderten Bewegungen noch eine drehende Bewegung der Zunge hinzukommt; auf ihre Bedeutung soll später eingegangen werden. Der Gesamtvorgang dauert 180—230 ms.

3. Der Doppellaut-Charakter der Orientierungslaute. Eine noch weitergehende Analyse der Bewegungen von Zunge und Mund ließ sich mit den beschriebenen Methoden nicht mehr durchführen, da ein Teil der Vorgänge in der Mundhöhle nicht direkt zu beobachten oder zu registrieren war. Näheren Aufschluß konnte ich nur auf *indirektem* Wege erhalten und zwar durch Veränderung der bestehenden Strukturen; dies

Tabelle 1. *Übersicht über die unter verschiedenen Umgebungsbedingungen ermittelten „Lautfolgen-Abstände"*

Versuchs-Nr.	Versuchsbedingungen	Zahl der registrierten Laute	Lautfolgen ◀▶ ◀▶ Mittelwerte in ms	Lautfolgen ◀▶ ◀▶ Extremwerte in ms	Abstände ◀——▶ ◀▶ Mittelwerte in ms	Abstände ◀——▶ ◀▶ Extremwerte in ms
1	Dunkel; Mikrophonabstand 30 cm	50	30	20—44	223	186—435
2	Hell (250 W-Lampe); Mikrophonabstand 30 cm . . .	46	30	24—38	178	138—204
3	Dunkel; Mikrophonabstand wenige cm	38	30	24—38	232	183—187
4	Dunkel; Mikrophonabstand 60 cm	38	30	27—34	174	175—204
5	Hell (250 W-Lampe); Mikrophonabstand wenige cm .	34	31	27—38	172	148—190

mußte auch eine Veränderung der normalen Laute zur Folge haben. Als wichtiges Kriterium der Laute erwies sich dabei die Reihenfolge, in der sie ausgesandt werden. Während Fledermäuse kurz hintereinanderfolgende Einzellaute erzeugen, beobachtete ich bei *Rousettus aegyptiacus* jeweils 2 Laute kurz hintereinander, dann nach längerem Abstand wieder 2 Laute usw. Nur in seltenen Fällen wird diese Folge von „*Doppellauten*" durch Einzellaute unterbrochen. Es erhebt sich sogleich die Frage, ob diese Lautfolge von den augenblicklichen Umgebungsbedingungen abhängt oder ob sie konstant ist. Um dies zu prüfen, wurden die Laute unter verschiedenen Umgebungsbedingungen registriert. Da die Tiere vor allem beim Abflug und besonders bei Begegnung mit einem anderen Tier Orientierungslaute erzeugen, habe ich folgende Versuchsanordnung gewählt:

Das Mikrophon stand genau in der Flugrichtung in wechselndem Abstand vor dem Kopf des Tieres; es mußte deshalb als Hindernis von wechselnder Entfernung erscheinen. Alle Aufnahmen erfolgten in einem Raum mit weitgehender Schalldämpfung. Die auf Tonband registrierten Orientierungslaute wurden am Schirmbild des Oszillographen gefilmt und die Abstände zwischen je zwei *kurz* hintereinanderfolgenden Lauten und je zwei in größerem Abstand folgenden Doppellauten gemessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt; kurze Abschnitte der Oszillogramme sind in der Abb. 13 wiedergegeben. In Versuch 6 und 7 peilen

2 Tiere im Abflug gegeneinander. Ihre Lautfolgen sind nicht immer deutlich voneinander zu trennen; diese beiden Versuche können deshalb nicht rechnerisch ausgewertet werden. Jedoch sind auch unter diesen Bedingungen stets charakteristische Doppellaute zu erkennen.

Ergebnis. In Versuch 1—5 blieben die Zeitabstände der jeweils kurz hintereinanderfolgenden Laute nahezu konstant. Sie variieren zwar in Einzelfällen (Extremwerte), bei der überwiegenden Zahl ist diese Schwankungsbreite jedoch so gering, daß man von chrakteristischen *Doppellauten* sprechen kann. Der Abstand der beiden Einzellaute beträgt im Mittel 30 ms; er ist so gering, daß er von einem ungeübten Ohr nicht mehr wahrgenommen wird. Erst bei gleichzeitiger Beobachtung am Oszilliographen wird klar, daß es sich bei dem offenbar einheitlichen Laut um einen Doppellaut handelt. Das gleiche Lautfolgebild erhielt ich auch bei der Registrierung mit dem Ultraschallmikrophon bei direkter Aufnahme. Der zeitliche Abstand schwankte hier zwischen 23 bis 30 ms; er entspricht somit den mit dem Grundig-Mikrophon gefundenen Werten und bestätigt nochmals, daß die für unser Ohr hörbaren Anteile und die im Ultraschallbereich liegenden Anteile der Laute *gleichzeitig* ausgesandt werden.

Weit größeren Schwankungen ist dagegen der Abstand zwischen 2 Doppellauten unterworfen. Das Tier kann die Doppellaute sehr rasch oder langsam hintereinander aussenden. Der Abstand zwischen 2 Doppellauten beträgt aber mindestens das *sechs- bis zehnfache* des Abstandes der zwei kurz hintereinanderfolgenden Laute.

Damit war ein wichtiges Kriterium der Orientierungslaute — *ihr Doppellautcharakter* — gefunden, das in den folgenden Versuchen, in denen die Strukturen der Lauterzeugung verändert wurden, ausgewertet werden konnte. Ob diese Doppellaute eine spezielle Bedeutung bei der Orientierung besitzen, ist noch unklar.

4. Untersuchungen über die Funktion der Mundhöhle bei der Erzeugung der Orientierungslaute. Die Untersuchungen hatten gezeigt, daß die Laute in der Mundhöhle durch rasch ablaufende Bewegungen der Zunge entstehen. Es ergab sich nun die Frage, auf welche Weise und mit welchen feineren Strukturen die Orientierungslaute gebildet werden. Ihrem Charakter entsprechend, konnte es sich dabei um *Reibelaute* zwischen den verhornten Oberflächen der Zunge und des Gaumens, aber auch um Laute, die beim *Absprengen* der Zunge von den Schleimhäuten der Mundhöhle entstehen, handeln. Durch die folgenden Experimente konnte die Frage entschieden werden:

a) Operative Entfernung der Hornzähnchen der Gaumenleisten. Die Zungenoberfläche der Flughunde ist mit dorsalwärts gerichteten Hornpapillen besetzt. Der harte Gaumen besitzt fünf verstärkte Gaumenleisten; vier davon tragen Hornzähnchen, die den spitzen Hornpapillen

am Zungenrücken entgegenstehen (Abb. 14). Die Entfernung der Hornzähnchen erfolgte mit einem scharfen Skalpell. Die Zähnchenreihen und ein schmaler Streifen der darunterliegenden Schleimhaut wurden abgehoben und die Blutung gestillt. Bereits 30 min nach der Operation hatte sich das Tier erholt und flog im Zimmer frei umher.

Ergebnis. Unmittelbar nach der Operation erzeugte das Tier überwiegend normale Doppellaute; vereinzelt waren jedoch neben diesen ein oder zwei weitere schwache Laute zu erkennen (Abb. 14). In 3 Tagen verheilte die Wunde und das Tier erzeugte nur noch Doppellaute. Der verschiedentlich nach der Operation aufgetretene 3. und 4. Laut war

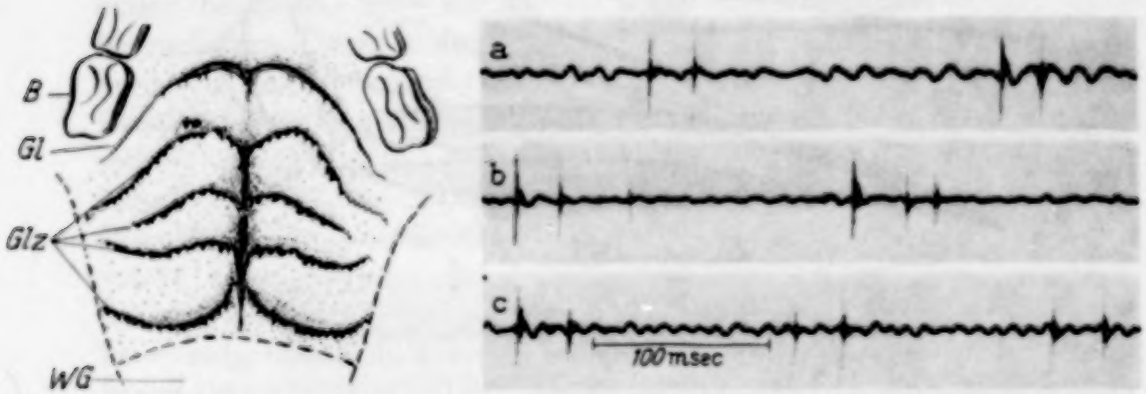

Abb. 14 a—c. Oszillogramme von Orientierungslauten vor und nach Entfernung der gezähnten Gaumenleisten: *B* letzter oberer Backenzahn, *Gl* glatte und *Glz* gezähnte Gaumenleisten, *Wg* weicher Gaumen; a vor, b unmittelbar nach und c 4 Tage nach der Operation

offenbar eine unmittelbare Folge des Eingriffes. Damit war klar, daß die Hornzähnchen des Gaumens und der Zunge bei der Bildung der Laute keine Rolle spielen. Mit großer Wahrscheinlichkeit entstanden die Laute durch Absprengen der Zunge von der Schleimhaut der Mundhöhle.

b) Dient der Gaumen der Zunge als Absprengfläche? Die Orientierungslaute der Flughunde sind den *„Schnalzlauten"* des Menschen sehr ähnlich. Wir erzeugen diese Laute, indem wir die Oberfläche der Zunge an den harten Gaumen andrücken und ruckartig davon absprengen. Dabei entsteht jedoch nur ein Einzellaut. Legt man die Zungenspitze an den Gaumen und sprengt sie dann so ab, daß sie noch in den Mundboden hineinschlägt, so entsteht ein Doppellaut mit ähnlich kurzem Zeitabstand wie bei den Orientierungslauten der Flughunde. Zur Erzeugung dieses Doppellautes ist aber immer der *Gaumen* als Absprengfläche und der *Mundboden* als Aufschlagfläche nötig.

Es lag nahe zu prüfen, ob bei der Erzeugung der Orientierungslaute ein ähnlicher Mechanismus vorliegt und welche Rolle der Gaumen dabei spielt. Um das Profil des Gaumens zu verändern und ihn als Absprengfläche auszuschalten oder einzuschränken, fertigte ich den Tieren unter Narkose Gaumenplastiken aus *Palavit* (Abb. 15). Dieser schnell erhärtende Kunststoff wurde auf den harten Gaumen aufgetragen; er zerfloß links und rechts in die Zahnreihen und erstarrte nach einigen Minuten.

Die Ergebnisse dieser Versuche seien zusammengefaßt wiedergegeben (Abb. 15): Die Plastik, die den gesamten harten Gaumen bedeckte und gegen den weichen Gaumen als dünne Platte auslief, hatte auf die Erzeugung der Laute keinen Einfluß. Doppellaut-Charakter und die Intensität der Laute blieben normal.

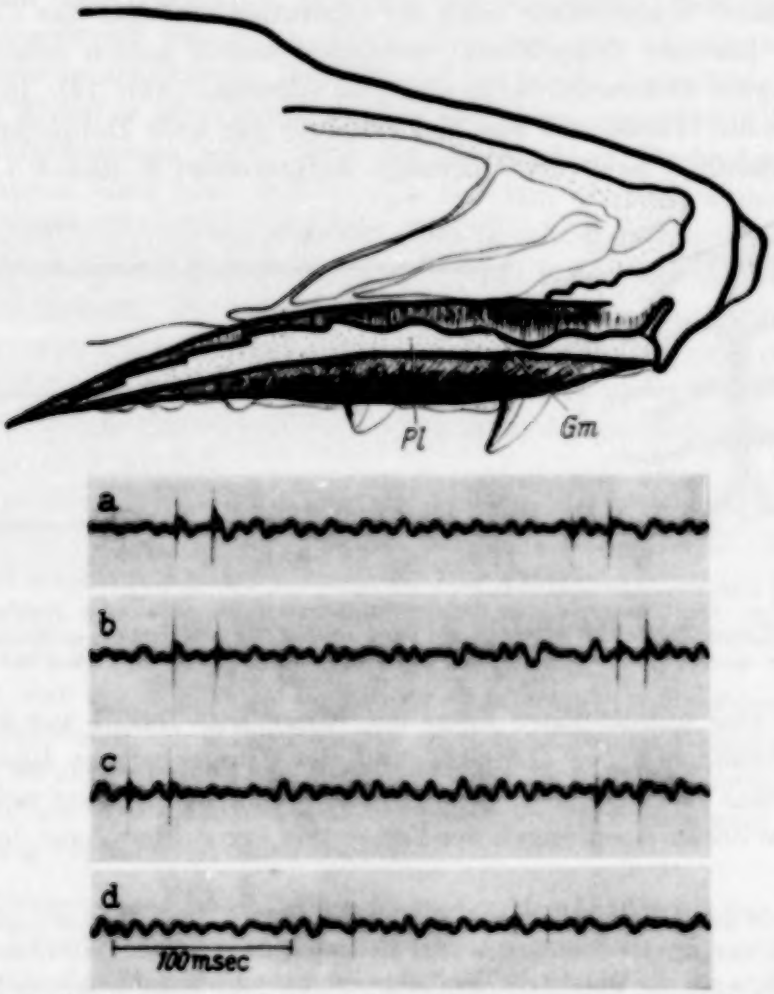

Abb. 15a—d. Oszillogramme von Orientierungslauten vor und nach Anbringen der Gaumenplastik: *Pl* Plastik, *Gm* harter Gaumen; a vor und b nach Anbringen der Plastik, c mit aufgeklebtem Schaumgummi (1 mm dick), d 2 mm dick

In 10 Versuchen klebte ich nun auf die Plastik Schaumgummilagen von verschiedener Größe und Dicke; sie bedeckten erst nur den harten Gaumen und dann fortschreitend das gesamte Munddach bis zum Schlundeingang. War die Schaumgummischicht 1 mm dick, so erzeugte das Tier Laute von normaler Intensität; der Doppellaut-Charakter blieb unverändert. War die Gummischicht dagegen 2 mm dick, so wurde die Intensität *beider* Laute — nicht wie erwartet nur des einen — geringer. Dies deutet auf eine erhebliche Einengung des Bewegungsspielraumes der Zunge, nicht aber auf den Ausfall nur einer Absprengfläche hin.

Die gleichen Ergebnisse erhielt ich, wenn anstelle von Schaumgummi aufgerauhtes Wildleder verwendet wurde. Das Absprengen der Zunge mußte dadurch erheblich erschwert sein. *Der Gaumen dient demnach der Zunge nicht als Absprengfläche.*

c) Ist der Mundboden an der Lauterzeugung beteiligt? Da wir bei der Erzeugung von Schnalz-Doppellauten auch den Mundboden benützen, habe ich bei mehreren Tieren in den vorderen Unterkieferwinkel Plastiken eingefügt. Diese sollten die Struktur des Mundbodens verändern. Der flüssige Kunststoff wurde unter Narkose auf die abgetrocknete Schleimhaut aufgetragen und erhärtete rasch zu einer festen Platte. Auf Höhe der unteren Eckzähne war die Plastik etwa 2 mm dick; zum Frenulum linguae hin wurde sie immer dünner (Abb. 16).

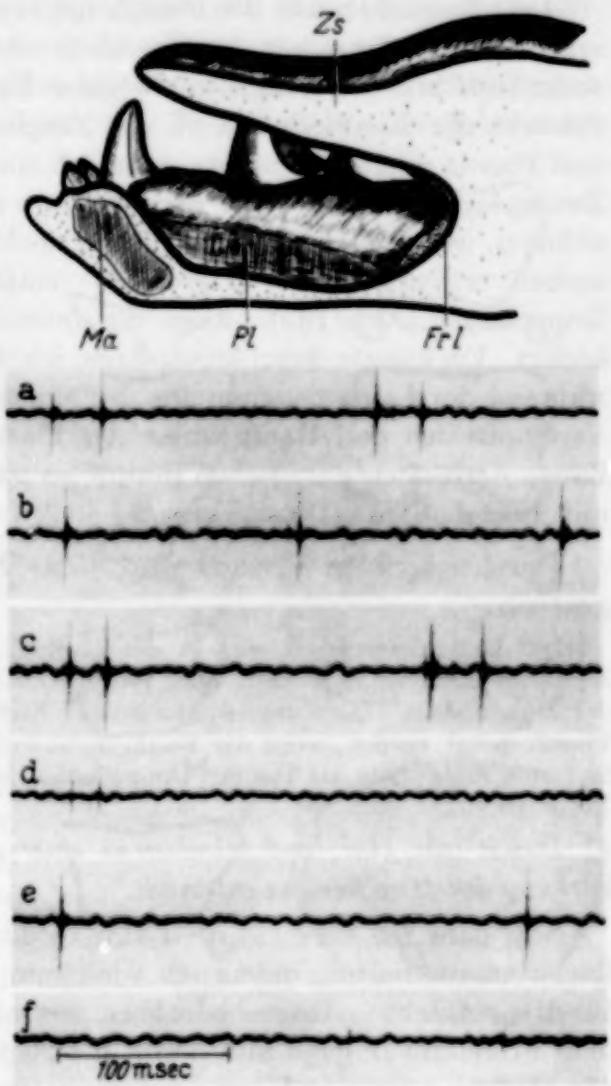

Abb. 16a—f. Oszillogramme von Orientierungslauten vor und nach Anbringen der Unterkieferplastik: *Zs* Zungenspitze (Medianschnitt), *Fr l Frenulum linguae*, *Pl* Plastik, *Ma Mandibula* (Querschnitt); a normale Laute, b Zungenspitze auf der Plastik liegend, c Zungenspitze unter der Plastik, d Schaumgummi auf der Plastik, e eine Zellstoffrolle links *oder* rechts zwischen Zunge und Mundbodenwanne, f 2 Zellstoffrollen links *und* rechts zwischen Zunge und Mundbodenwanne

Die Versuche seien zusammengefaßt wiedergegeben: Die Unterkieferplastik bedeckte den Mundboden bis an das *Frenulum linguae*, so daß die Zungenspitze den Mundboden an keiner Stelle mehr erreichen konnte. Das Ergebnis dieser Versuche war überraschend: Die Tiere konnten nur noch *Einzellaute* (Abbildung 16b) erzeugen, deren Zeitabstände stets ein Mehrfaches des normalen Abstandes, der im Doppellaut kurz hintereinanderfolgenden Laute, ausmachten. Sechs dieser Versuche endeten mit dem gleichen Ergebnis. Entscheidend war dabei, daß die Plastik bis an das

Frenulum linguae heranreichte und der vordere Zungenabschnitt *auf* der Plastik lag. Nur in ganz wenigen Fällen war der 2. Laut noch andeutungsweise neben dem Einzellaut erkennbar.

In 9 Versuchen war die Plastik um etwa 2 mm zu kurz geraten; sie erreichte das *Frenulum linguae* nicht mehr. Diese Tiere versuchten dann stets mit der Zungenspitze unter die Plastik zu gelangen. Dabei entsteht der Eindruck, als ob die Zungenspitze zwischen Mundboden und Plastik eingeklemmt ist. Sooft ich einem Tier die Zunge aus dieser Zwangslage befreite, versuchte es sofort diese Stellung wieder einzunehmen, wobei es den Zungenrücken hoch emporwölbte. In allen Versuchen erzeugten diese Tiere mit „eingeklemmter" Zunge normale Doppellaute (Abb. 16c). Auch die Intensität der Laute blieb unverändert. Ich konnte dabei beobachten, wie der Mittelabschnitt der Zunge während der Lauterzeugung aus der Mundbodenwanne herausschnellte. Verstopfte ich den Raum unter der Plastik mit Zellstoff, so daß die Zunge nach oben ausweichen mußte, so peilten alle Tiere sofort wieder mit Einzellauten. Diese Versuche ließen sich beliebig oft umkehren.

Durch folgenden Versuch wird dieses Ergebnis anschaulich wiedergegeben:

Die Unterkieferplastik war in der Medianlinie abgebrochen und ragte nur noch von einer Seite (sie hatte noch festen Halt an einer Zahnreihe) bis zur Mitte des Mundbodens. Die Zungenspitze konnte daruntergreifen oder konnte auf die Plastik gelegt werden, wenn der Raum darunter mit Zellstoff angefüllt war. Nur im ersten Falle peilte das Tier mit Doppellauten, im zweiten dagegen mit intensiven Einzellauten.

Damit war klar, daß mindestens einer der beiden Laute unter Mitwirkung des Mundbodens entstand.

Nun habe ich versucht, den Mundboden schrittweise als Absprengfläche auszuschalten, indem ich wiederum Schaumgummilagen auf die Plastik aufklebte. Diese bedeckten erst nur den Mundbodenraum *vor* dem Frenulum linguae und dann in fortschreitendem Maße die weiter dorsalwärts gelegenen Räume zwischen Mundbodenwanne und Zungenwurzel. Unter den letzteren Bedingungen war die Struktur des gesamten Mundbodens verändert; die Zungenspitze lag in allen Versuchen auf dem Schaumgummi. Nur ganz vereinzelt konnte ich unter diesen Bedingungen noch schwache Orientierungslaute registrieren. In den meisten Fällen war die Lauterzeugung ganz unterbunden (Abb. 16d). Entfernte man aus einem der seitlich vom *Frenulum linguae* gelegenen Räume ein Stück der Schaumgummilage, so erzeugte das Tier sofort wieder Einzellaute. Mit einer noch einfacheren Methode erhielt ich später ähnliche Ergebnisse: Wurde z. B. links *und* rechts vom *Frenulum linguae* eine 1—2 mm dicke Zellstoffrolle an der Seitenwand der Mundbodenwanne nach rückwärts geschoben, so konnte das Tier keine Laute mehr

hervorbringen (Abb. 16f). Wurde eine dieser Rollen wieder entfernt, gleichgültig ob links oder rechts, so erzeugte das Tier (Abb. 16e), dessen Zungenspitze noch auf der Plastik lag, sofort wieder Einzellaute.

Ergebnis. 1. Erreicht die Zungenspitze den Mundboden im Kieferwinkel nicht, so kann das Tier nur *Einzellaute* erzeugen.

2. Erreicht die Zungenspitze unter der Plastik den Mundboden, so entstehen normale Doppellaute; der Zungenrücken ist dabei stark emporgewölbt.

3. Die Lautproduktion erlischt ganz, wenn die Zungenspitze auf der Plastik liegt und die Seitenräume der Mundbodenwanne mit Schaumgummi oder Zellstoff ausgefüllt sind. Wird einer der beiden Räume wieder freigelegt, so kommen wieder Einzellaute zustande. *Der Mundboden ist somit bei der Bildung beider Laute beteiligt.*

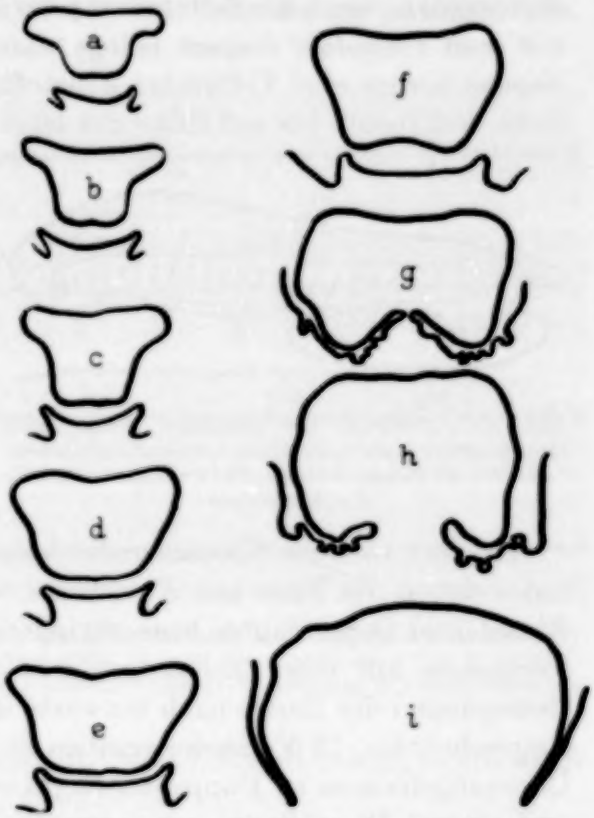

Abb. 17. Zunge und Mundboden von der Spitze bis zum Zungengrund in Querschnitte zerlegt

d) Begrenzung der Absprengflächen der Mundbodenwanne. Eine Antwort auf die Frage, wie groß die Absprengflächen sind, war möglich, wenn alle Bedingungen bekannt sind, unter denen die Lauterzeugung ganz stillgelegt werden kann. Ob es sich dabei um eine einheitliche Fläche handelt, sollte durch Versuche geklärt werden, in denen jeweils nur einer der beiden Laute ausgeschaltet wurde. Ich versuchte schließlich durch Anlegen von genau bemessenen Zellstoffrollen die Ausdehnung der Absprengflächen direkt zu messen.

Um die folgenden Veränderungen in der Mundbodenwanne festlegen zu können, habe ich Zunge und Mundboden histologisch in Querschnitte zerlegt. Abb. 17 zeigt in schematischer Weise eine Auswahl dieser Schnitte: Die Figuren a—f umfassen den vor dem *Frenulum linguae* liegenden Zungenabschnitt und den Mundbodenraum, der zu beiden Seiten von der *Plica sublingualis* eingeschlossen wird. Bei „g" tritt der *M. genioglossus* vom Mundboden her in den Zungenkörper ein. Er teilt die Mundbodenwanne in zwei schmale seitliche Räume. Figur „h"

zeigt einen Schnitt auf Höhe der Hauptmasse des *M. genioglossus*. Die Zunge kann in flacher Stellung die ganze Mundbodenwanne ausfüllen. Figur „i" ist ein Schnitt auf Höhe der letzten Backenzähne und zeigt die Zunge in abgeflachter Stellung.

In einer ersten Versuchsreihe habe ich nach und nach alle Flächen der Mundbodenwanne mit Zellstoffrollen belegt. Die Lauterzeugung konnte dabei ausgeschaltet oder die Intensität der Laute stark vermindert werden, wenn die Seitenräume der Mundbodenwanne und der Raum vor dem *Frenulum linguae* belegt waren oder wenn um das *Frenulum linguae* herum eine U-förmige Zellstoffrolle gelegt wurde, deren Enden links und rechts bis auf Höhe des letzten Backenzahnes reichten.

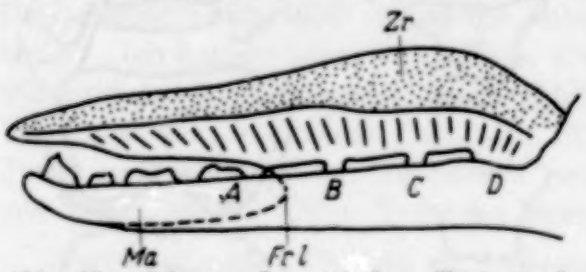

Abb. 18. Schema der zwischen Zunge und Mundbodenwanne bedeckten Schleimhautflächen (*ABCD*): *Zr* Zungenrücken, *Frl Frenulum linguae*, *Ma Mandibula*

In 12 Versuchen wurde dabei die Lauterzeugung 9mal ganz unterbunden und 3mal die Intensität der Laute sehr stark vermindert. Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Mundbodenwanne *vor*, *seitlich* und *hinter* dem *Frenulum linguae* an der Lauterzeugung mitwirkt.

In einer zweiten Versuchsreihe konnte ich die Bedingungen klären, unter denen die Tiere nur *Einzellaute* oder Übergangsformen zwischen Einzel- und Doppellauten hervorbringen. Die Zungenspitze lag bei diesen Versuchen auf einer Zellstoffrolle (4 mm lang, 2—3 mm dick). Die Bewegungen der Zunge nach vorwärts und nach oben waren dabei nicht eingeschränkt. 19 Versuche ergaben in 10 Fällen nur Einzellaute, 7mal Übergangsformen zu Doppellauten, in einem Fall gar keine Laute mehr und einmal Doppellaute von normaler Intensität. Die Tiere erzeugen ebenfalls Einzellaute oder Übergangsformen, wenn allein der Raum links *oder* rechts vom *Frenulum linguae* mit einer Zellstoffrolle ausgefüllt ist (4—6 mm lang, 2—3 mm dick).

In 29 Versuchen produzierten die Tiere, gleichgültig ob der Zellstoff links oder rechts lag, in 13 Fällen nur Einzellaute, 12mal Einzellaute mit Übergangsformen und 4mal Doppellaute mit großen Intensitätsunterschieden.

Die zahlreichen Übergangsformen erklären sich aus der nicht immer genau gleichen Quantität der Zellstoffrollen, die durch die Bewegungen der Zunge gelegentlich auch aus ihrer ursprünglichen Lage verschoben werden. Dabei treten immer starke Intensitätsunterschiede auf, die darauf schließen lassen, daß der schwächere Laut unter erschwerten Bedingungen erzeugt wird. Es ist wahrscheinlich, daß das *Frenulum linguae* die Absprengfläche der Mundbodenwanne teilt.

Um ein Maß über die Ausdehnung der Absprengflächen zu erhalten, habe ich Zellstoffrollen von bestimmter Größe links *oder* rechts an die Mundbodenwanne angelegt und die Lauterzeugung geprüft. Die Zellstoffrollen wurden in den folgenden Versuchen verlängert oder verkürzt und die Laute wiederum geprüft. Im äußersten Falle reichte der Zellstoff 2 mm hinter den letzten Backenzahn und 3—4 mm vor das *Frenulum linguae*. Diese Flächen wurden zur besseren Übersicht in die Abschnitte A, B, C, D unterteilt (Abb. 18). 47 Versuche an verschiedenen Tieren ergaben:

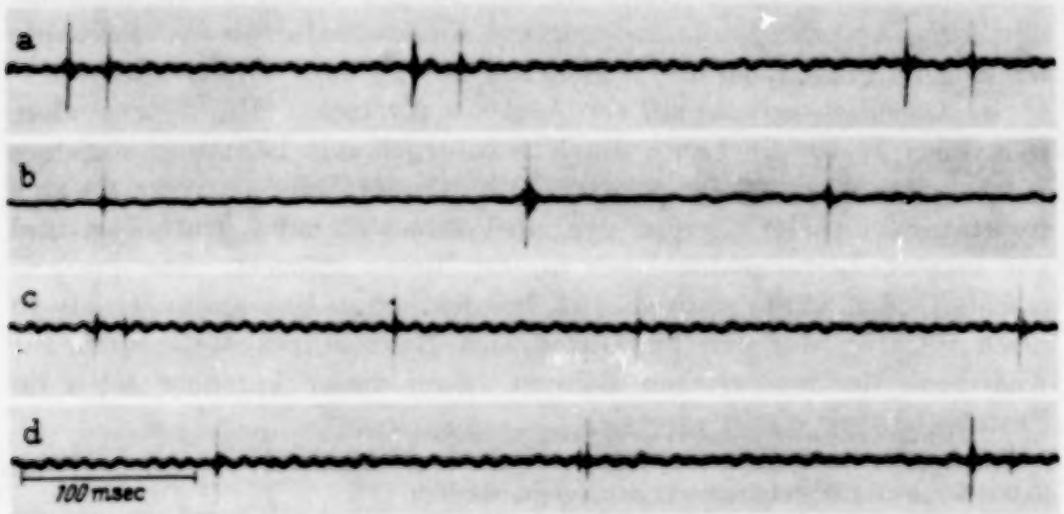

Abb. 19a—d. Oszillogramme von Orientierungslauten nach Blockierung der linken oder der rechten Absprengflächen: a normale Laute, b nach Ausschaltung einer Absprengfläche, c und d Übergänge zum Doppellaut-Rhythmus durch Verkürzung der Zellstoffrollen

1. Sind die Flächen ABCD oder BCD mit Zellstoff belegt, so erzeugen die Tiere nur Einzellaute (Abb. 19b).

2. Sind die Flächen ABC, BC oder CD belegt, so treten Übergangsformen zwischen Einzel- und Doppellauten auf. Nur unter CD sind auch intensive Doppellaute zu beobachten (Abb. 19c, d).

3. Sind die Flächen AB, A, B, C oder D belegt, so werden überwiegend Doppellaute mit starken Intensitätsunterschieden hervorgebracht.

Damit ist klar, daß die gesamte Seitenfläche der Mundbodenwanne an der Lauterzeugung mitwirkt. Es spielt keine Rolle, ob die Ausschaltungsversuche links oder rechts erfolgen. Je weniger die Flächen bedeckt werden, um so mehr Übergänge zum Doppellaut-Rhythmus treten auf, bis schließlich in überwiegendem Maße nur noch Doppellaute erzeugt werden.

5. Untersuchungen über die Funktion der Zunge bei der Erzeugung der Orientierungslaute. In welcher Weise die Doppellaute zustande kommen, läßt sich aus den bisherigen Versuchen noch nicht sagen. Auch die Filme

der Zungen- und Mundbewegungen erlauben noch keine Schlüsse über eine den Doppellauten eventuell entsprechende Teilung der Sprengräume. Auch die Frage, ob der Doppellaut durch die Bewegungen der Zunge rein mechanisch bedingt ist oder ob er eine spezielle Funktion besitzt, ist noch unklar. In den folgenden Abschnitten sollen diese Verhältnisse untersucht werden. Da ein wesentlicher Teil der Vorgänge nicht direkt beobachtet werden kann, habe ich auch an der Zunge kontrollierbare Veränderungen in Form von Lähmungen einzelner Muskelabschnitte und Nervendurchtrennungen vorgenommen. Diese hatten ihrerseits wieder charakteristische Änderungen in der Bewegungsfolge der Zunge und der Lauterzeugung zur Folge. Auf diese Weise konnte ich erst die Frage nach der Teilung der Sprengräume entscheiden.

a) Lähmungsversuche mit verschiedenen Narkotica. Um festzustellen, in welcher Weise die Laute durch vorübergehende Lähmung einzelner Muskelabschnitte der Zunge beeinflußt werden, habe ich verschiedene Substanzen aus der Gruppe der muskelerschlaffenden Narkotica und zur lokalen Leitungsanästhesie in die Zunge injiziert. Die muskelerschlaffenden Stoffe erwiesen sich bei den hohen Verdünnungen als zu rasch flüchtig; dagegen bewährten sich Novocainpräparate auch zur Anästhesie der motorischen Bahnen. Zwei dieser Versuche seien im Protokollauszug wiedergegeben:

Versuch 1. 14^{05} Injektion von 0,15 ml Novocain (0,5%) + Corbasillösung (0,003%) in den Mittelabschnitt der Zunge, median.

14^{08} Die Laute klingen dumpf und folgen langsam aufeinander (nur Einzellaute).

14^{09} Verschiedentlich ist der zweite Laut des Doppellautes wieder schwach angedeutet.

14^{15} Erstmals wieder Doppellaute; die Zahl der Einzellaute nimmt ab.

14^{30} Das Tier erzeugt wieder normale Doppellaute.

Versuch 2. 14^{35} Injektion von 0,3 ml Novocain (1%) + Suprareninlösung (0,0025%) in die Zungenmitte, median. Verkrampfung der Zunge!

14^{37} Die Zunge ist völlig gelähmt.

14^{44} Leises „Ticken" hörbar.

14^{55} Erstmals deutliche Einzellaute; die Verkrampfung löst sich.

15^{00} Erstmals Doppellaute; auffallende Lautserien aus zwei und mehr Einzellauten; der normale Doppellaut erscheint „zerflattert".

15^{25} Zwischen den Doppellauten erfolgen immer noch Einzellaute; die Doppellaute zeigen starke Intensitätsunterschiede.

16^{37} Das Tier erzeugt wieder normale Doppellaute.

Im 1. Versuch wurde die Zunge teilweise gelähmt; das Tier erzeugte nur noch Einzellaute. Als das Narkoticum unwirksam wurde, stellte sich nach und nach der normale Lautrhythmus wieder ein. Im 2. Versuch erfolgte eine Lähmung aller Zungenmuskeln, die erst nach 2 Std wieder ganz beseitigt war. Das Tier konnte längere Zeit gar keine Orientierungslaute mehr erzeugen. Die Lautgruppen aus 2—5 Lauten weisen auf Störungen der Koordination der Muskelbewegungen hin.

Die Bewegungen der Zunge erfolgen zu einem großen Teil durch die Aktion des *M. genioglossus*, der vom *N. hypoglossus* motorisch innerviert wird. Um seine Funktion für die Lauterzeugung kennenzulernen, injizierte ich 0,3 ml Novocain + Suprareninlösung in diesen Muskel seitlich vom *Frenulum linguae*. Bereits nach 1 min konnte das Tier keine Laute mehr erzeugen; nach 8 min folgten unregelmäßige Einzellaute, erst 17 min später wieder Doppellaute. Die Wiederholung dieses Versuches mit geringerer Substanzmenge ergab, daß das Tier vorübergehend nur Einzellaute hervorbrachte.

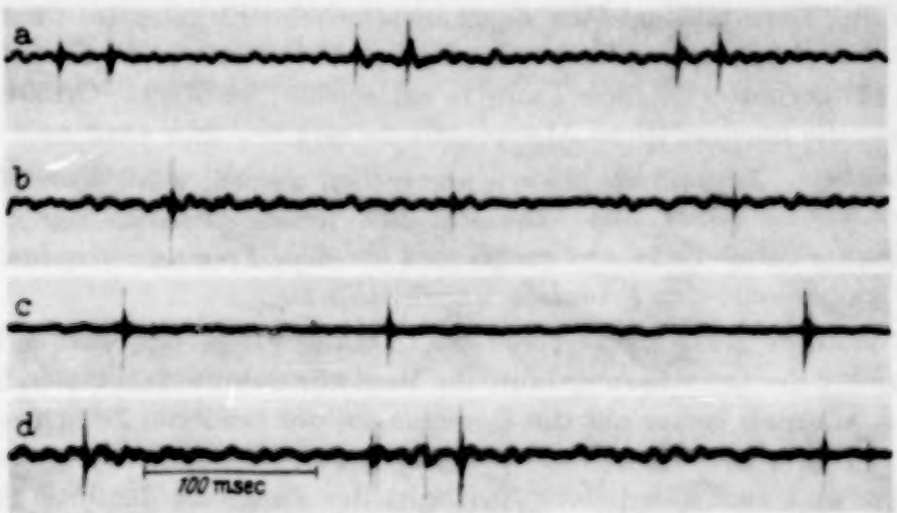

Abb. 20 a—d. Oszillogramme von Orientierungslauten vor und nach einseitiger Durchtrennung des *N. hypoglossus:* a vor der Operation, b unmittelbar nach der Operation, c und d Kontrollversuche 50 Tage nach der Operation; das Tier erzeugt überwiegend Einzellaute, verschiedentlich Doppellaute mit starken Intensitätsunterschieden

Ergebnis. In Abhängigkeit von der Substanzmenge kann die Lauterzeugung teilweise oder ganz ausgeschaltet werden. Ob für das Auftreten von Einzellauten eine Halbseitenlähmung der Zunge verantwortlich ist, sollten die folgenden Versuche zeigen.

b) Einseitige Durchtrennung des N. hypoglossus. Unter Narkose wurde bei einem Tier der linke, bei einem zweiten der rechte *N. hypoglossus* in der Zunge noch vor der Aufzweigung durchtrennt. Nach diesen Eingriffen waren die Bewegungen der Zunge nicht wesentlich verändert. Die operierte Seite der Zunge lag jeweils etwas tiefer. Beide Tiere sind noch monatelang nach den Operationen bei guter Gesundheit.

Beide Tiere, die vor den Eingriffen normale Doppellaute erzeugt hatten, konnten hernach nur noch Einzellaute hervorbringen (Abb. 20 b). Damit war eine Möglichkeit gegeben, den Entstehungsort von jeweils *einem* Laut genau festzulegen. Entsprechend den früheren Versuchen habe ich zwischen die Zunge und die Mundbodenwanne kleine Zellstoffrollen gelegt. Aus 127 Versuchen ergab sich dabei folgendes Bild:

Das auf der linken Zungenseite gelähmte Tier kann *keine* Orientierungslaute mehr erzeugen, wenn der Raum rechts (intakte Seite) zwischen Zunge und Mundbodenwanne bis vor das *Frenulum linguae* mit Zellstoff belegt ist. Die von diesem Tier vorher erzeugten Einzellaute stammen damit aus dem intakten rechten Sprengraum.

Das auf der rechten Zungenseite gelähmte Tier kann ebenfalls keine Laute mehr erzeugen, wenn der entsprechende Raum links (intakte Seite) mit Zellstoff belegt ist. Die vorher erzeugten Einzellaute stammen damit aus dem linken Sprengraum.

Beide Tiere produzierten dagegen schwache Einzellaute, wenn die in den intakten Sprengraum eingelegte Zellstoffrolle nicht lang genug war. Oft zerflatterten diese Laute in zahlreiche Einzellaute; Grund hierfür mag die uneinheitliche Absprengfläche sein.

Eegebnis. Doppellaute können nur erzeugt werden, wenn beide Hypoglossus-Nerven intakt sind. Die schmalen Räume zwischen Zunge und Mundbodenwanne links und rechts und vor dem Frenulum linguae sind die Sprengräume; das Frenulum linguae teilt sie.

c) Analyse des Absprengvorganges. Da die Flughunde während der Erzeugung der Orientierungslaute ihr Maul nur zu einem schmalen Spalt öffnen, konnten bisher nur die Bewegungen der vorderen Zungenregion registriert werden. Es bestand jedoch Grund zu der Annahme, daß der mittlere und auch der tiefere Abschnitt der Zunge an der Produktion der Laute beteiligt ist. Um dies zu prüfen, habe ich mehreren Tieren Plastiken aus *Palavit* angefertigt, die genau auf die Zahnreihe einer Oberkieferseite paßten und das Maul in einem Winkel von 45—60° sperrten. Die Augen der Tiere wurden wegen der starken Beleuchtung während der Filmaufnahmen bedeckt, der Zungenrücken zur besseren Beobachtung mit einer Kontrastfarbe bestrichen.

Die Tiere versuchten stets, mit der Zunge die Plastik zu entfernen. Hielt man sie aber auf- und abschwingend in der Hand, so fingen sie sofort an zu peilen. Diese Laute wurden zunächst auf Tonband registriert; sie zeigten gegenüber normalen Lauten keine wesentlichen Unterschiede. Eine genaue direkte Beobachtung der Vorgänge war auch hier wegen der großen Geschwindigkeit der Bewegungen nicht möglich. Verschiedentlich peilte ein Tier jedoch gerade in dem Augenblick, in dem es beim Auf- und Abschwingen den Ruhepunkt erreichte. Dabei konnte ich beobachten, wie die Zunge während der Lautemission ruckartig nach oben sprang, wobei sich die Seitenräume zwischen Zunge und Mundbodenwanne öffneten.

Eine genaue Analyse dieses Vorganges gelang erst mit Filmaufnahmen (80 Bilder/sec). In der Abb. 21 sind 12 fortlaufende Filmbilder schematisch nachgezeichnet:

1. Beginn der Bewegung: Die Zunge liegt noch zurückgezogen am Mundboden.

2. Die Zungenspitze gleitet vorwärts.

3. Der rückwärtige Abschnitt der Zunge wölbt sich; ihre Seitenfläche wird sichtbar, sie löst sich von der Mundbodenwanne ab.

4. Die Zungenspitze gleitet weiter nach vorne.

5. Die Wölbung des Zungenrückens erreicht ihren Höhepunkt; die ganze Seitenfläche der Zunge ist sichtbar. Die Zunge ist lang und schmal.

6. Nun hebt sich der vordere Zungenabschnitt.

7.—8. Die Zungenspitze erreicht den äußeren Lippenrand.

9. Die Zunge sinkt wieder in die Mundbodenwanne zurück; ihre Seitenflächen legen sich an die Mundbodenwanne an.

10. Die Zunge sinkt tief in die Mundbodenwanne ein.

11. Die Zungenspitze wird zurückgezogen.

12. Die ganze Zunge liegt wieder flach und breit am Mundboden.

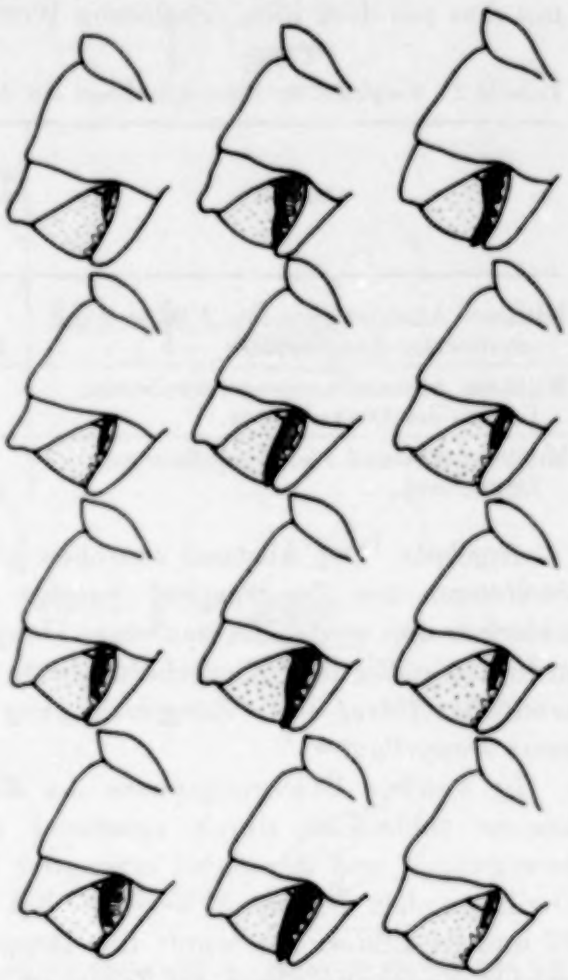

Abb. 21. Die Bewegungen der Zunge während der Erzeugung von Orientierungslauten nach Filmbildern (80 Bilder/sec) gezeichnet. Ober- und Unterkiefer sind auf der rechten Seite durch eine Plastik gesperrt (zu lesen von oben nach unten)

Ergebnis. Zur Erzeugung der Orientierungslaute schnellt die Zunge mit einer ruckartigen Bewegung aus ihrer Ruhelage am Mundboden empor. Der Doppellaut entsteht wahrscheinlich im Augenblick des Absprengens der Zunge von den seitlichen Wänden der Mundbodenwanne.

Ob für die Doppellaut-Bildung ein *einheitlicher* Bewegungsablauf der Zunge erforderlich ist, wie er aus den Filmaufnahmen hervorgeht oder ob hierzu *zwei* Einzelbewegungen nötig sind, konnte in den folgenden Versuchen geklärt werden.

Ich habe zu diesem Zweck bei den Filmaufnahmen den Abstand zwischen je zwei rasch hintereinanderfolgenden Zungenbewegungen

(vom ersten Bild, das die Zungenspitze am weitesten exponiert zeigte, bis zum zweiten gleichen Bild) in Millisekunden berechnet. Von gleichzeitig auf Tonband registrierten Lauten wurden ebenfalls die Zeitabstände zwischen den beiden kurz aufeinanderfolgenden Einzellauten und zwischen jeweils zwei aufeinanderfolgenden Doppellauten gemessen und mit den aus dem Film erhaltenen Werten verglichen.

Tabelle 2. *Vergleich der Filmaufnahmen mit den Zeitabständen der Orientierungslaute*

Abstände	Mittelwerte ms	Extremwerte ms	Filmgeschwindigkeit cm/sec	Zahl der registrierten Zungenbewegungen bzw. der Laute
Mittlerer Abstand zwischen 2 Bildern mit exponierter Zungenspitze	258	195—300	56,7	50
Mittlerer Abstand zwischen den beiden Lauten des Doppellautes.	30	20—39	28,8	66
Mittlerer Abstand von Doppellaut zu Doppellaut.	195	138—435	28,8	284

Ergebnis. Der Abstand zwischen je zwei am weitesten exponierten Stellungen der Zungenspitze beträgt das 6—10fache des Abstandes zwischen den beiden Lauten eines Doppellautes. Er entspricht größenordnungsmäßig der Wiederholungsrate der Doppellaute. *Der im Film ermittelte Ablauf einer Zungenbewegung entspricht somit der Erzeugung eines Doppellautes.*

In welcher Bewegungsphase der Zunge die Lautemission erfolgt, konnte schließlich durch *synchrone Filmregistrierung* der Zungenbewegungen und der dabei erzeugten Laute auf dem Schirmbild des Oszillographen bestimmt werden. Bei einer Filmgeschwindigkeit von 32 und 64 Bildern/sec wurde der Doppellaut und die zeitlich entsprechende Bewegungsphase der Zunge im Filmbild festgehalten (Abb. 22). Alle Aufnahmen ergaben übereinstimmend, daß erst nach Aussendung des zweiten Lautes eines Doppellautes der Mittelabschnitt der Zunge sichtbar wird. Erst nach Beendigung der Lautemission erfaßt die Bewegung auch den vorderen Zungenabschnitt. *Der Doppellaut entsteht somit in dem Augenblick, in dem die Zunge aus der Mundbodenwanne herausschnellt.*

Ob die Doppellautbildung dabei nur eine Folge rein mechanischer Bewegungsabläufe der Zunge ist oder ob eine spezielle Funktion für die Orientierung dahintersteckt, geht aus den Untersuchungen nicht mit Sicherheit hervor. Einige Hinweise zu diesem Problem ergaben sich aus Versuchen, in denen geprüft wurde, ob die Tiere mit einseitiger Zungenlähmung die Fähigkeit zur Erzeugung von Doppellauten wiedererlangen,

sei es durch Regeneration des verletzten Nerven oder durch Erhöhung der Wiederholungsrate der erzeugten Einzellaute. Letzteres würde für eine spezielle Funktion des Doppellautes sprechen.

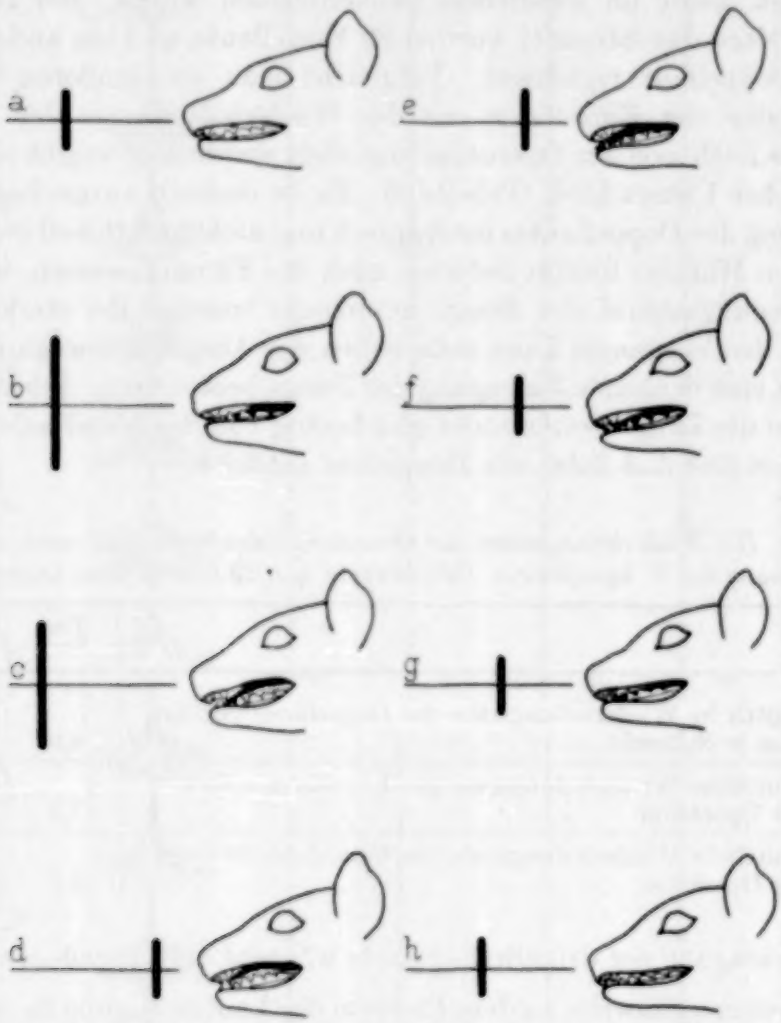

Abb. 22a—h. Synchrone Filmregistrierung (32 Bilder/sec) der Zungenbewegung und der Orientierungslaute (das Geräusch der Filmkamera wurde auf allen Bildern mitregistriert). Die Bilder wurden nach stark vergrößerten Kopien gezeichnet; die Oszillogramme sind schematisch wiedergegeben. a Unmittelbar vor der Lautemission (im Oszillogramm ist nur das Kameragerausch aufgezeichnet), b während der Aussendung des *ersten* Lautes, c während der Aussendung des *zweiten* Lautes; der Mittelabschnitt der Zunge ist emporgeschnellt und die Seitenfläche der Zunge ist sichtbar, d unmittelbar nach der Lautemission, e die Zungenspitze liegt am vorderen Lippenrand, f rückläufige Bewegung, g der seitliche Mundspalt verengert sich, h die Zunge ist von der Seite nicht mehr sichtbar

Ich habe die Orientierungslaute von 2 Tieren, denen der *N. hypoglossus* einseitig durchtrennt war, $^1/_2$ Jahr lang regelmäßig geprüft. Ein Versuch, der 50 Tage nach der Operation erfolgte, soll das Ergebnis veranschaulichen (Abb. 20c und d). Bei Tier Nr. 1 (linker Nerv durchtrennt) wurden neben 87 Einzellauten 11 andeutungsweise Doppellaute aufgezeichnet; letztere zeigen alle Übergangsformen zwischen

„zerflatterten" Einzellauten und Doppellauten mit starken Intensitätsunterschieden. Einmal ist der erste, ein andermal der zweite Laut der intensivere. Diese Lautgruppen vermitteln den Eindruck, als ob einer der beiden Laute im Entstehen steckenbleiben würde. Bei Tier N. 2 (rechter Nerv durchtrennt) wurden 29 Einzellaute und ein andeutungsweiser Doppellaut registriert. Vergleicht man die größeren Wiederholungsraten der Einzellaute mit der Wiederholungsrate der Doppellaute, die noch vor der Operation ermittelt wurden, so ergibt sich kein wesentlicher Unterschied (Tabelle 3). Es ist deshalb anzunehmen, daß die Bildung des Doppellautes mechanisch und *nicht* funktionell begründet ist. Einen Hinweis hierfür lieferten auch die Filmaufnahmen, in denen der Bewegungsablauf der Zunge untersucht wurde. Bei starker Zeitdehnung des Vorganges kann man neben der Absprengbewegung jedesmal auch eine drehende Bewegung der Zunge beobachten. Ich vermute, daß dabei die Zungenseiten nicht gleichzeitig von der Mundbodenwanne abspringen und daß dabei ein *Doppellaut* entsteht.

Tabelle 3. *Die Wiederholungsraten der Orientierungslaute vor und nach einseitiger Durchtrennung des N. hypoglossus.* (Mittelwerte von 29 Einzel- bzw. Doppellauten)

	Tier Nr. 1	Tier Nr. 2
Durchschnittliche Wiederholungsrate der *Doppellaute* vor der Operation je Sekunde	8,0	8,7
Durchschnittliche Wiederholungsrate der *Einzellaute* sofort nach der Operation	7,1	6,9
Durchschnittliche Wiederholungsrate der *Einzellaute* 50 Tage nach der Operation	6,7	7,8

E. Die Erzeugung der Orientierungslaute während der Jugendentwicklung

Um weitere Hinweise zu dem Problem der Lauterzeugung zu erhalten, habe ich die Laute von Jungtieren von ihrer Geburt an regelmäßig registriert. Es sollte festgestellt werden, ob sich der charakteristische Doppellaut allmählich entwickelt oder schon mit dem „ersten" Laut vorhanden ist. Ferner sollte der Zeitpunkt, an dem die Jungen erstmals Orientierungslaute erzeugen, ermittelt werden.

In der Abb. 23 ist die Lautentwicklung von einem Jungtier dargestellt und mit den Orientierungslauten des Muttertieres verglichen.

Ergebnis. Am 31. Lebenstag des Jungen wurden erstmals schwache Orientierungslaute registriert. Sie besitzen von Anfang an den Charakter von Doppellauten. Der mittlere Abstand der beiden Einzellaute betrug 23 ms. Erst wenn das Tier fliegen kann, werden die Laute intensiver. Nach 3 Monaten waren die Laute des Jungen nicht mehr von denen des Muttertieres zu unterscheiden.

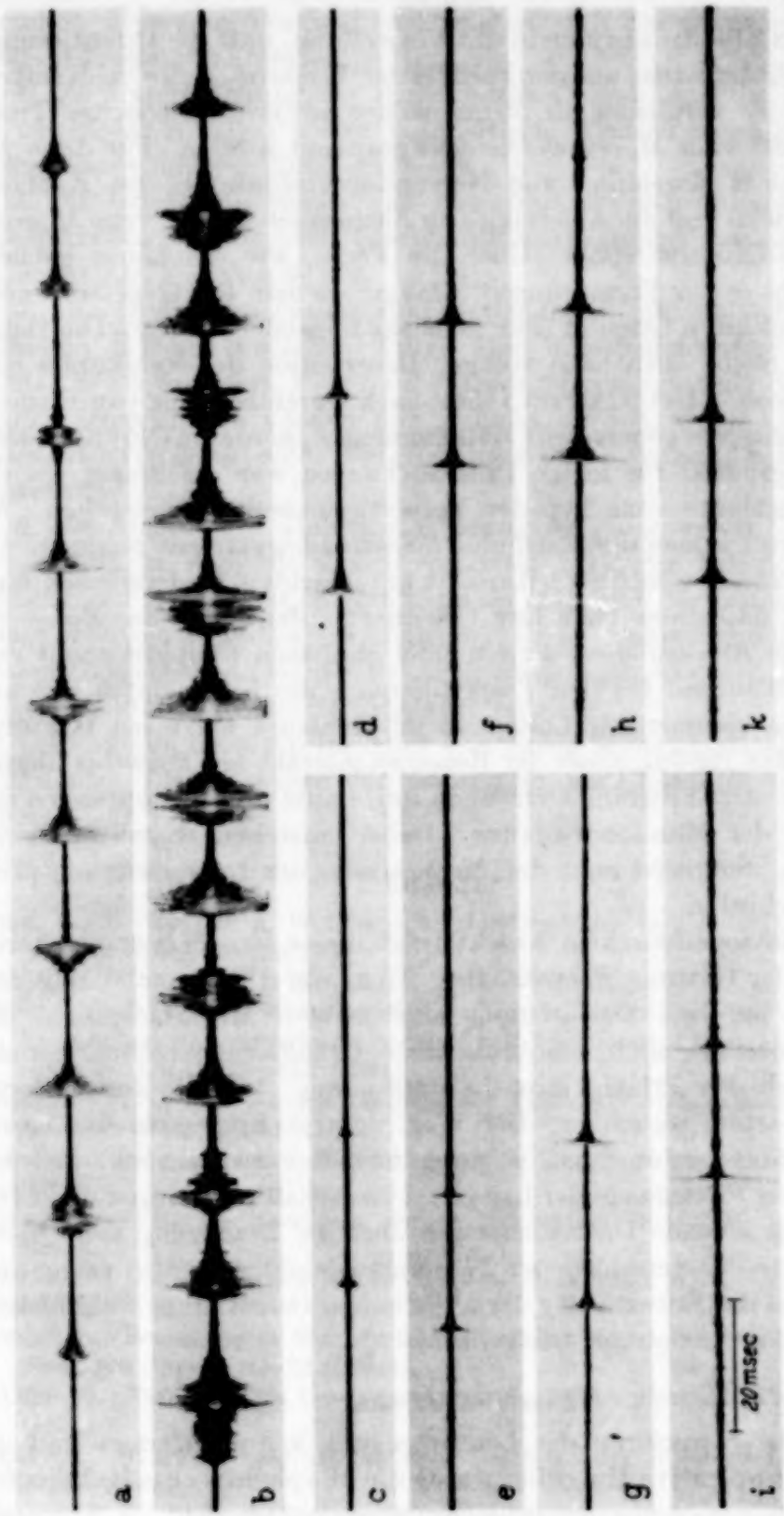

Abb. 23a—k. Die Lautentwicklung bei einem Jungtier verglichen mit den Orientierungslauten des Muttertieres: a und b Stimmfühlungslaute des Jungen am 13. und am 31. Lebenstag, c Orientierungslaute des Jungen am 31. Tag, d die Laute des Muttertieres unter gleichen Bedingungen, e Laute des Jungen am 49. Tag, f Laute des Muttertieres, g Laute des Jungen am 56. Tag, h Laute des Muttertieres, i Laute des Jungen am 88. Tag, k Laute des Muttertieres

Schluß

Griffin (1958) begründete die Vorstellung, daß die Orientierungslaute der Fledermäuse aus der Familie der *Vespertilioniden* im Kehlkopf entstehen. Er vergleicht die Stimmbänder mit zwei elliptischen Trommelfellen, die vom *M. cricothyreoideus* gespannt werden. Für diese Ansicht sprechen Ergebnisse von Nervendurchtrennungen am Kehlkopf (Griffin 1952) und die Ableitung von Aktionspotentialen vom *M. cricothyreoideus* (Novick 1955). Über die Frage, wie die Laute gebildet werden, gibt es nur Vermutungen. Daß neben dem Kehlkopf auch noch andere Strukturen beteiligt sind, geht aus folgendem hervor: Die Dauer der Laute bleibt auch nach völliger Denervation des Kehlkopfes eine Zeitlang unverändert (Griffin 1958); nach Durchtrennung von Elementen des *Plexus pharyngicus* tritt vollkommene Aphonie ein (Novick 1955).

Ausgangspunkt für meine Untersuchungen war die Frage, wie die Orientierungslaute vom Typ der Vespertilionidenlaute entstehen. Als Objekt hierfür schien der Flughund *Rousettus aegyptiacus* geeignet. Im Gegensatz zu allen in dieser Hinsicht untersuchten Fledermäusen fand ich jedoch, daß diese Tiere ihre Orientierungslaute mit der *Zunge* erzeugen. Der *Erzeugungsort* der einander ähnlichen Laute ist somit verschieden. Während bei den *Vespertilioniden* die Laute durch den aus der Trachea kommenden Luftstrom im Kehlkopf entstehen (Griffin 1952, Möhres 1953a), spielt der Respirationstrakt bei *Rousettus* hierfür keine Rolle. Die Flughunde erzeugen ihre Laute durch Absprengen der Zunge von der Mundbodenwanne. Dabei entstehen charakteristische *Doppellaute*. Somit ist auch der *Mechanismus* der Lauterzeugung prinzipiell verschieden.

Unter phylogenetischem Aspekt trägt dieses Ergebnis zur weiteren Isolierung der Gattung *Rousettus* bei. Nicht nur die Tatsache, daß von den bisher auf ihre Orientierung untersuchten Megachiropteren die Gattung *Rousettus* allein eine akustische Orientierung besitzt, spricht hierfür, auch das Prinzip ihrer Lauterzeugung stellt sie den anderen Chiropterenarten gegenüber. Der Weg, der zur Erzeugung der Laute durch die Zunge geführt hat, ist auch deshalb verwunderlich, weil der Kehlkopf von *Rousettus* in der Lage ist, Ultraschall zu erzeugen (Kulzer 1958). Vergleichende Untersuchungen über die Erzeugung von Orientierungslauten bei verschiedenen Fledermausfamilien würden zeigen, ob bei *Rousettus* die Entwicklung der akustischen Orientierung unabhängig von den Mikrochiropteren erfolgt ist.

Zusammenfassung

1. Um die Strukturen der Lauterzeugung kennenzulernen und im Hinblick auf operative Eingriffe, wurde die Morphologie des Kehlkopfes und der Mundregion von *Rousettus aegyptiacus* untersucht.

2. Die Durchtrennung der Kehlkopfnerven, sowie die Umleitung der Atemluft über eine Trachealfistel zeigten, daß die Orientierungslaute *nicht* im Kehlkopf entstehen.

3. Die Unterbrechung der Zungennerven ergab, daß die Flughunde im Gegensatz zu allen bisher untersuchten Fledermäusen ihre Orientierungslaute mit der *Zunge* erzeugen.

4. Die Orientierungslaute von *Rousettus aegyptiacus* haben *Doppellaut*-Charakter. Die beiden Einzellaute eines Doppellautes folgen einander im Abstand von 30 ms.

5. Die Orientierungslaute sind Sprenglaute. Sie entstehen in den schmalen Räumen zwischen Zunge und Mundbodenwanne links und rechts, sowie vor dem *Frenulum linguae*. Letzteres teilt die Sprengräume. Doppellaute können nur gebildet werden, wenn beide *Hypoglossus*-Nerven intakt sind. Bei einseitiger Durchtrennung entstehen nur Einzellaute.

6. Die Analyse der Absprengbewegung der Zunge zeigte, daß in dem Augenblick, in dem die Zunge ruckartig aus ihrer Ruhelage emporschnellt, der Doppellaut entsteht. Dabei lösen sich die Seitenwände der Zunge von der Mundbodenwanne ab. Es ist wahrscheinlich, daß die beiden Zungenhälften nicht gleichzeitig abspringen, wodurch der Doppellaut-Charakter der Orientierungslaute entsteht.

7. Jungtiere erzeugen im Alter von einem Monat erstmals Orientierungslaute. Diese besitzen von Anfang an den Charakter von Doppellauten.

Literatur

Bolk, L., E. Göppert u. W. Lubosch: Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere. Berlin 1933.

Braus, H.: Anatomie des Menschen. I. Berlin: Springer 1929.

Dobson, G. E.: On the structure of the pharynx, larynx and hyoidbones in the Epomophori with remarks on its relation to the habits of these animals. Proc. zool. Soc. Lond. 685—693 (1881).

Eisentraut, M., u. H. Jansen: Biologie der Flederhunde (Megachiroptera). Biol. generalis (Wien) **18**, 327 (1944).

Elias, H.: Zur Anatomie des Kehlkopfes der Mikrochiropteren. Morph. Jb. **37**, 70 (1907).

Ellenberger-Baum: Handbuch der vergleichenden Anatomie der Haustiere. Berlin 1943.

Exner, S.: Die Innervation des Kehlkopfes. S.-B. Akad. Wiss. Wien, math.-nat. Kl. III **89**, 63 (1884).

Exner, S.: Bemerkungen über die Innervation des M. cricothyreoideus. Pflügers Arch. ges. Physiol. **43**, 22 (1888a).

Exner, S.: Zur Kenntnis der Innervation des Kehlkopfes. Zbl. Physiol. **2**, 629 (1888b).

Frey, R., W. Hügin u. O. Mayrhofer: Lehrbuch der Anaesthesiologie. Berlin 1955.

Grassé, P. P.: Traite de Zoologie, Bd. XVII/II. Paris 1955.

Griffin, D. R.: Mechanisms in the bat larynx for production of ultrasonic sounds. Fed. Proc. **11**, 59 (1952).

Griffin, D. R.: Listening in the dark. The acoustic orientation of bats and men. Yale University Press 1958.

Griffin, D. R., and R. Galambos: Obstacle avoidance by flying bats. Anat. Rec. **78**, 95 (1940).

Griffin, D. R., A. Novick and M. Kornfield: The sensitivity of echolocation in the fruitbat *Rousettus*. Biol. Bull. **115**, 107 (1958).

Grosser, O.: Zur Anatomie der Nasenhöhle und des Rachens der einheimischen Chiropteren. Morph. Jb. **29**, 1 (1902).

Katzenstein, I.: Methoden zur Erforschung des Kehlkopfes sowie der Stimme und der Sprache. In Abderhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. V, Teil 7/1. Berlin 1930.

Kulzer, E.: Untersuchungen über die Biologie von Flughunden der Gattung *Rousettus* Gray. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **47**, 374 (1958).

Kulzer, E.: Flughunde erzeugen Orientierungslaute durch Zungenschlag. Naturwissenschaften **43**, 117 (1956).

Lang, H., and J. P. Chapin: The American Museum Congo-Expedition Collection of bats. Bull. Amer. Mus. Nat. Hist. **37**, 405 (1917).

Lanz, T. v., u. W. Wachsmuth: Praktische Anatomie, Bd. I, Teil 2: Hals. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955.

Luchsinger, R., u. G. E. Arnold: Lehrbuch der Stimm- und Sprachheilkunde. Wien 1959.

Matschie, P.: Beiträge zur Kenntnis von *Hypsignathus monstosus* Allen. S.-B. Ges. naturforsch. Freunde Berl. 1899, S. 28—30.

Möhres, F. P.: Über die Ultraschallorientierung der Hufeisennasen *(Chiroptera-Rhinolophinae)*. Z. vergl. Physiol. **34**, 536 (1953a).

Möhres, F. P.: Ultraschallorientierung auch bei Flughunden *(Macrochiroptera-Pteropodidae)*. Naturwissenschaften **40**, 536 (1953b).

Möhres, F. P.: Jugendentwicklung des Orientierungsverhaltens bei Fledermäusen. Naturwissenschaften **40**, 298 (1953c).

Möhres, F. P., u. E. Kulzer: Über die Orientierung der Flughunde *(Chiroptera-Pteropodidae)*. Z. vergl. Physiol. **38**, 1 (1956).

Motta Manno, G.: Esperience per l'individuazione dell'organo produttore degli ultrasuoni nei pipistrelli medianti lo studio del volo cierco. Boll. Soc. ital. Biol. sper. **27**, 859, 1164 (1951); **28**, 207 (1952).

Novick, A.: Orientation in paleotropical bats. II. Megachiroptera. J. exp. Zool. **137**, 443 (1958).

Novick, A.: Laryngeal muscles of the bat and production of ultrasonic sounds. Amer. J. Physiol. **183**, 648 (1955).

Ranke, O. F., u. H. Lullies: Lehrbuch der Physiologie. Gehör, Stimme, Sprache. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1953.

Dr. E. Kulzer, Zoophysiologisches Institut der Universität, Tübingen, Hölderlinstr. 12

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 43, 269—277 (1960)

From the Department of Zoology, Faculty of Science, Cairo University, Guiza, Egypt

XANTHINE OXIDASE AND ARGINASE IN THE LIVER AND KIDNEY OF REPTILES

By

FOUAD KHALIL and GABER HAGGAG

(Received April 1, 1960)

Introduction

Our previous studies on the nitrogenous urinary excretion of reptiles have shown that uric acid represents a considerable constituent in the urinary excreta of crocodiles (KHALIL and HAGGAG 1958) and tortoises (KHALIL and HAGGAG 1955) and forms the main nitrogenous constituent of the urine of lizards (KHALIL 1951) and snakes (KHALIL 1948a, 1948b).

Uric acid is formed as a result of the action of the enzyme xanthine oxidase on xanthine or hypoxanthine in the presence of oxygen. As far as the present authors can ascertain the study of the distribution and enzymatic activity of xanthine oxidase was undertaken only on some Chelonian representatives (RICCERI 1954) but nothing is known about that question in members of other orders of reptiles. RICCERI found that xanthine oxidase was absent from both liver and kidney of the fresh water turtle, *Emys europaea*, present in the kidney of the marine turtle, *Thalassochelys caretta*, and present in both liver and kidney of the terrestrial *Testudo graeca*, (Table 3).

Arginase, on the other hand, is known to catalyse the last stage in the formation of urea. Urea is not found in appreciable quantities in the nitrogenous excreta of reptiles other than the Chelonia. In alligators, urea either formed 4.1% of the total nitrogen excreted (HOPPING 1923) or was even considered to be present in traces (COULSON, HERNADEZ and BRAZDA 1950). In *Crocodylus niloticus*, urea amounted to 4.5% of the excretory nitrogen (KHALIL and HAGGAG 1958). Urea was either completely absent or present in traces in lizards (KHALIL 1951 and HAGGAG 1945) and in snakes (KHALIL 1948a, 1948b). Urea was also found to be present in considerable quantities in the urinary excreta of a number of turtles (MOYLE 1949) and to be absent from the nitrogenous excreta of most individuals in case of *Chelone mydas* (KHALIL 1947). Both urea and uric acid were found to represent together the main nitrogenous excretory constituents in tortoises (KHALIL and HAGGAG 1955).

The only reference about the presence of arginase in reptiles is that of CLEMENTI (BALDWIN 1952). He found arginase to be absent from both liver and kidney of *Lacerta agilis* and *Anguis fragilis* and to be present in the liver of *Emys europaea* (Table 3).

The present work was undertaken to procure more knowledge about the distribution and activity of both xanthine oxidase and arginase in the liver and kidney of representatives of the different orders of reptiles.

Material and Methods

Representatives of nearly all the reptilian orders were chosen for the present study to have a more or less complete survey of the distribution of xanthine oxidase and arginase in Reptilia. *Crocodylus niloticus* (LAURENTI) was studied as an example of Order Crocodilia, *Testudo leithii* (GÜNTHER) for Order Chelonia, *Uromastyx aegyptia* (FORSKAL) and *Chalcides ocellatus* (FORSKAL) for Order Lacertilia and lastly *Psammophis sibilans* (LINN.) and *Zamenis diadema* (SCHLEGEL) for Order Ophidia.

For measuring the activity of xanthine oxidase in these uric acid-excreting animals, it was found necessary to modify the procedures available in the literature since their direct application was found unsatisfactory. The manometric method of AXELROD and ELVEHJEM (1941) for activity measurement of xanthine oxidase in liver homogenates could not be used since it is not applicable for kidney homogenates — as pointed out by AXELROD and ELVEHJEM themselves — and it is preferred in the present study to use one identical method for testing xanthine oxidase activity in both liver and kidney. LITWACK, BOTHWELL, WILLIAMS and ELVEHJEM (1953) preferred to measure the xanthine oxidase activity of tissue homogenates by a more direct method which depends on the measurement of the disappearance of the substrate, xanthine, colorimetrically by FOLIN-CIOCALTEU'S (1927) phenol reagent, making use of WILLIAM'S (1950) method for estimation of xanthine and guanine in urine. In the present work on reptiles, on applying this procedure, i.e. measuring the rate of the disappearance of the substrate by the colorimetric estimation of xanthine, high amounts were obtained since uric acid, formed by the oxidation of xanthine, is known to give a colour with FOLIN-CIOCALTEU'S reagent, similar to that of xanthine (HITCHING 1941). LITWACK et al. did not take into consideration this uric acid interferance since they were working on mammals (rats) where uric acid is known to be present in negligible amounts in the tissues together with the presence of uricase enzyme which oxidises any uric acid formed to allantoin. As the present investigation is to be carried out on uric acid-forming species in which uricase is absent, such a method could not

be applied here. Therefore instead of measuring xanthine disappearance the increase in the end product, uric acid, formed from added xanthine within a definite period of time was taken as a measure of xanthine oxidase activity. A rather similar procedure, i.e. measuring the uric acid formed on incubation of liver and kidney with xanthine was carried out by RICCERI in his study of distribution of xanthine oxidase in Chelonia (RICCERI 1954) and birds (RICCERI 1953a, 1953b). The method used in the present study, which can be applied for investigation of xanthine oxidase in any other uric acid-forming species, is as follows.

Animals used were stunned by a blow on the head, decapitated and bled. The liver and kidney were removed and immediately placed into cracked ice. After several minutes chilling, the tissues were blotted and weighed. The weighed portions were homogenised with the homogeniser described by POTTER and ELVEHJEM (1936) in 5 volumes of 0.039 M. sodium-potassium phosphate buffer of pH 7.4 and strained through a gauze. Incubation of the homogenate samples with the substrate and the blank of endogenous experiments were exactly similar to those of LITWACK et al. (1953), except that the aliquots taken after the incubation periods, were used for uric acid estimation and not for xanthine measurements. Uric acid was measured by the colorimetric method of BROWN (1945). Care was taken that the volume of the supernatant tested does not contain more than 12 γ, the maximum concentration limit in BROWN's method. The activity of the enzyme was related to the nitrogen content of the tissue and not to the fresh or dry weight which varies in the different animals and different nourishment conditions (UMBREIT, BURRIS and STAUFFER 1947).

The activity of arginase in tissue homogenates was measured by the colorimetric micro-method described by IYER and MURTI (1952) and by VART (1952) in which the tissue homogenate is incubated with arginine-HCl at optimum temperature and pH. At zero time and at ten minutes intervals, homogenate sample were pipetted and tested colorimetrically for its arginine content. The rate of arginine hydrolysed is taken as a measure for the activity of arginase. Arginine hydrolysed by a certain amount of tissue was calculated to an amount of tissue corresponding to 1 mg. tissue nitrogen. Both liver and kidney were tested for their arginase activity. The tissue homogenates were prepared as described under xanthine oxidase.

Results and Discussion

As it is clear from Table 1, xanthine oxidase is present in the liver of tortoises and snakes and in the kidney of nearly all the reptiles studied. This is shown from the extra uric acid formed in the homogenate samples

Table 1. *Distribution of Xanthine Oxidase in Liver and Kidney of Reptiles*

Order	Species	Animal No.	Time of incubation (hrs.)	γ-Uric acid/mg tissue N					
				Liver			Kidney		
				Endogenous	+ Substrate	From added xanthine	Endogenous	+ Substrate	From added xanthine
—I— Crocodilia	*Crocodylus niloticus*	1, ♀	0	6.60	6.60	0	28.87	28.87	0
			2	6.60	6.60	0	37.76	51.09	13.33
		2, ♂	0	3.42	3.42	0	25.70	25.70	0
			2	3.42	3.42	0	29.26	33.94	4.68
		3, ♂	0	8.04	8.04	0	70.15	70.15	0
			2	8.04	8.04	0	73.26	84.18	10.92
—II— Chelonia	*Testudo leithii*	1, ♂	0	9.40	9.04	0	16.6	16.6	0
			1	11.20	12.30	1.10	16.6	16.6	0
			2	11.20	16.30	5.10	16.6	16.6	0
		2, ♂	0	31.10	31.10	0	228.0	228.0	0
			1	33.20	45.60	12.40	238.0	238.0	0
			2	37.20	53.60	16.40	238.0	248.0	10
		3, ♀	0	14.60	14.60	0	35.20	35.20	0
			1	20.00	20.70	0.70	35.20	35.20	0
			2	24.20	26.40	2.20	35.20	37.20	2.0
		4, ♂	0	10.00	10.00	0	27.20	27.20	0
			1	12.80	14.40	1.60	27.20	27.20	0
			2	13.30	19.20	5.90	27.20	27.20	0
		5, ♀	0	14.60	14.60	0	76.00	76.00	0
			1	14.60	19.40	4.80	76.00	76.00	0
			2	16.80	22.80	6.00	76.00	76.00	0
—III— Lacertilia	*Uromastyx aegyptia*	1, ♀	0	2.37	2.37	0	15.23	15.23	0
			1	2.37	2.37	0	27.40	118.80	91.40
			2	2.37	2.37	0	39.59	130.90	91.31
		2, ♂	0	3.70	3.70	0	26.32	26.32	0
			1	3.70	3.70	0	33.62	128.60	94.94
			2	3.70	3.70	0	36.56	206.20	169.64
		3, ♀	0	5.50	5.50	0	38.38	38.38	0
			1	5.50	5.50	0	45.15	97.07	51.92
			2	5.50	5.50	0	47.41	135.50	88.09
		4, ♀	0	4.60	4.60	0	41.84	41.84	0
			1	4.60	4.60	0	58.57	133.90	75.33
			2	4.60	4.60	0	58.57	184.10	125.53
		5, ♀	0	5.00	5.00	0	25.60	25.60	0
			3	5.00	5.00	0	59.28	172.40	113.12
	Chalcides[1] *ocellatus*	Group 1 (12 animals)	0	traces	traces	0	65.40	65.40	0
			2	traces	traces	0	67.08	90.55	23.47
		Group 2 (20 animals)	0	traces	traces	0	35.75	35.75	0
			2	traces	traces	0	44.47	53.19	8.72
		Group 3 (20 animals)	0	traces	traces	0	48.91	48.91	0
			2	traces	traces	0	51.96	61.13	9.17
		Group 4 (21 animals)	0	traces	traces	0	37.30	37.30	0
			3	traces	traces	0	54.80	69.10	14.30

Table 1 (Continued)

Order	Species	Animal No.	Time of incubation (hrs.)	γ-Uric acid/mg tissue N					
				Liver			Kidney		
				Endogenous	+ Substrate	From added xanthine	Endogenous	+ Substrate	From added xanthine
—IV— Ophidia	*Psammophis*[1] *sibilans*	Group 1 (2 animals)	0	26.71	26.71	0	160.40	160.40	0
			3	53.42	85.69	32.27	168.50	188.50	20.00
		Group 2 (2 animals)	0	30.07	30.07	0.	89.80	89.80	0
			2	56.52	96.20	39.68	102.70	104.80	2.10
		Group 3 (2 animals)	0	26.05	26.05	0	50.23	50.23	0
			2	49.83	77.00	27.17	61.39	69.76	8.37
		Group 4 (4 animals)	0	23.28	23.28	0	116.70	116.70	0
			2	48.21	53.21	5.0	116.70	128.90	12.20
	Zamenis[1] *diadema*	Group 1 (2 animals)	0	45.44	45.44	0	85.04	85.04	0
			2	56.41	68.96	12.55	133.70	142.10	8.40
		Group 2 (2 animals)	0	21.39	21.39	0	150.50	150.50	0
			2	33.62	45.84	12.22	229.80	602.20	372.40
		Group 3 (2 animals	0	17.70	17.70	0	176.60	176.60	0
			2	25.08	36.14	11.06	253.10	337.70	84.60

[1] As the liver and kidney of these reptiles were small, more than one animal were dissected and their tissues were homogenised together, as indicated under the animal number.

incubated with the substrate. In this respect, reptiles can be divided into two main groups, the first having no hepatic xanthine oxidase (crocodiles and lizards) and the other having hepatic xanthine oxidase (tortoises and snakes). Edson, Krebs and Model (1936) and Ricceri (1953a, 1953b) found a similar condition in birds. The pigeon family is devoid of hepatic xanthine oxidase, similar in this case to crocodiles and lizards, and the second group represented by all birds other than the pigeon family where xanthine oxidase exists in their livers as it is the case with tortoises and snakes. The kidneys of reptiles examined were found to contain the enzyme with the exception of the kidney of tortoises where the enzyme is either absent or present in traces. On the other hand the kidney of all birds was found to contain xanthine oxidase (Edson et al. 1936 and Ricceri 1953a, 1953b).

Münzel (1938) in his study on uric acid and urea formation in reptiles failed to form any uric acid by the liver of lizards and succeeded to form it by the liver of tortoises. According to the present work, it is clear that this was due to the absence of xanthine oxidase from the liver of lizards and its presence in that of tortoises.

The presence of xanthine oxidase in the liver of snakes and its absence from that of lizards can be taken as a basis of systematic

differentiation between these two orders in addition to the known anatomical differences which are sometimes not quite decisive.

It is noteworthy to point out that xanthine oxidase of the liver of *Testudo leithii* is not as active as that of snake's liver or lizard's kidney,

Table 2. *Distribution of Arginase in the Liver and Kidney of Reptiles*

Order	Species	Animal no.	γ-arginine HCl hydrolysed per each mg tissue N after 10 min incubation	
			Liver	Kidney
Crocodilia	*Crocodylus niloticus*	I, ♀	0	558
		II, ♂	0	397
		III, ♂	0	338
		IV, ♂	0	754
Chelonia	*Testudo leithii*	I, ♂	1210	0
		II, ♀	1075	0
		III, ♂	2805	0
		IV, ♂	4500	0
		V, ♀	2213	0
		VI, ♂	3750	0
Lacertilia	*Uromastyx aegyptia*	I, ♀	0	137
		II, ♀	0	125
		III, ♂	0	125
		IV, ♀	0	161
	Chalcides[1] *ocellatus*	Group 1 (12 animals)	0	168
		Group 2 (20 animals)	0	0
		Group 3 (20 animals)	0	149
Ophidia	*Psammophis*[1] *sibilans*	Group 1 (2 animals)	0	90
		Group 2 (2 animals)	0	400
		Group 3 (2 animals)	0	312
	Zamenis[1] *diadema*	Group 1 (2 animals)	0	273
		Group 2 (2 animals)	0	946
		Group 3 (2 animals)	0	704

[1] As these animals are small, more than one animal were dissected as indicated under the animal number, their tissues were homogenised together and tested.

Table 1. This lower enzymatic activity in tortoises runs in harmony with the general activity of these animals which is much lower than in snakes or lizards.

Since the liver of vertebrates, in general, is known to play an important role in the metabolism, it was thought of interest to see how far

xanthine oxidase-free livers of reptiles can help in the process of uric acid formation, and this will be the subject of a next paper.

As to the distribution of arginase, the results are shown in Table 2, and summarised in Table 3. In Table 2, it is clear that arginase was

Table 3. *Summary of the Distribution of Xanthine Oxidase and Arginase in Reptiles*

Order	Species	Xanthine oxidase		Arginase		References
		Liver	Kidney	Liver	Kidney	
I. Crocodilia	*Crocodylus niloticus*	−	+	−	+	Present work
II. Chelonia						
a) Fresh water turtles	*Emys europaea*	−	−			Ricceri 1954
				+	−	Clementi, as cited by Baldwin 1952
b) Marine turtles	*Thalassochlys caretta*	−	+			Ricceri 1954
c) Terrestrial tortoises	*Testudo graeca*	+	+			Ricceri 1954
	Testudo leithii	+	— or trace	+	−	Present work
III. Lacertilia	*Lacerta agilia*			−	−	Clementi, as cited by Baldwin 1952
	Anguis fragilis			−	−	Clementi, as cited by Baldwin 1952
	Uromastyx aegyptia	−	+	−	+	Present work
	Chalcides ocellatus	−	+	−	+	Present work
IV. Ophidia	*Psammophis sibilans*	+	+	−	+	Present work
	Zamenis diadema	+	+	−	+	Present work

absent from the liver of all the reptiles studied except that of tortoises. The enzyme was proved to be present in the liver of the tortoise, *Testudo leithii*. This finding supports the generalisation pointed out before by Clementi (1914) that "the enzyme arginase is present in the livers of ureotelic animals, but absent where metabolism is uricotelic", since no hepatic arginase was found in the ammono-uricotelic crocodiles (Khalil and Haggag 1958) or in the uricotelic lizards and snakes, while the enzyme existed in the liver of the ureo-uricotelic tortoises which excrete urea in big quantities (Khalil and Haggag 1955).

In the kidney, the enzyme was found to be present in that of *Crocodylus niloticus*, absent from that of tortoises, while in the lizards and snakes examined, only little amounts were present in the kidney. A similar finding was arrived at in birds by Clementi (1914) who found

that the kidney of birds contained some of the arginase enzyme. This arginase found in the kidney of these reptiles may be responsible for the little ureae found in the liquid urine of crocodiles and for the urea sometimes present in the nitrogenous excreta of lizards and snakes. The presence of arginase in the kidney of such reptiles may indicate that the site of formation of urea in uricotelic reptiles is in the kidney. A similar conclusion in birds, was arrived at by CLEMENTI (1945).

Summary

1. A method applicable for the investigation of xanthine oxidase in uric acid-excreting animals is described.

2. In crocodiles and lizards, xanthine oxidase is present in the kidney; in snakes, in both liver and kidney; and lastly in tortoises, the enzyme is present mainly in the liver but somtimes also in the kidney in traces.

3. The presence of hepatic xanthine oxidase in snakes and its absence from lizards can be looked upon as a basis for the differentiation between Order Ophidia and Order Lacertilia.

4. Arginase was present in the liver of chelonian tortoises, but hepatic arginase was absent from crocodiles, lizards and snakes studied.

5. In the kidney, arginase was present in fair amounts in crocodiles, and in little amounts in lizards and snakes, while the kidney of tortoises was completely free of the enzyme.

6. The presence of arginase in the kidney of uricotelic reptiles, proves that the kidney is the site of formation of the little urea sometimes excreted by these animals.

References

AXELROD, A. E., and C. A. ELVEHJEM: The xanthine oxidase content of rat liver in riboflavin deficiency. J. biol. Chem. **140**, 725—738 (1941).

BALDWIN, E.: Dynamic aspects of biochemistry. Cambridge University press 1952.

BROWN, H.: The determination of uric acid in human blood. J. biol. Chem. **158**, 601—608 (1945).

CLEMENTI, A.: Ricerche sulla arginasi: la distribuzione della arginasi nell'organismo e nella seri dei vertebrati. Atti Accad. naz. Lincei **23**, 612—616 (1914).

CLEMENTI, A.: The kidney as a urea-forming organ in birds: I. Urea content of chicken kidney. Boll. Soc. ital. Biol. sper. **20**, 461—463 (1945). Cited by the Chem. Abstr. **40**, 6607 (1946).

COULSON, R. A., T. HERNANDEZ and F. G. BRAZDA: Biochemical studies on alligators. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) **73**, 203—203 (1950).

EDSON, N. L., H. A. KREBS and A. MODEL: The synthesis of uric acid in the avian organism. Hypoxanthine as an intermediary metabolite. Biochem. J. **30**, 1380—1385 (1936).

FOLIN, O., and V. CIOCALTEU: On the tyrosine and tryptophane determinations in proteins. J. biol. Chem. **73**, 627—650 (1927).

HAGGAG, G.: Non-protein nitrogenous excretion in some Egyptian reptiles. Master of Science thesis, the University of Cairo, Egypt, 1954.

Hitchings, G. H.: The estimation of guanine and xanthine. J. biol. Chem. **139**, 843—854 (1941).

Hopping, A.: Seasonal changes in the gases and sugar of the blood and nitrogen distribution in the blood and urine of alligators. Amer. J. Physiol. **66**, 145—163 (1923).

Iyer, S. N., and C. R. K. Murti: A micromethod for the assay of arginase in tissue homogenate. Experientia (Basel) **8**, 308—309 (1952).

Khalil, F.: Excretion in reptiles. I. Nonprotein nitrogen constituents of the urine of the sea turtle Chelone mydas L. J. biol. Chem. **171**, 611—616 (1947).

Khalil, F.: Excretion in reptiles. II. Nitrogenous constituents of the urinary concretions of the oviparous snake Zamenis diadema, Schlegel. J. biol. Chem. **172**, 101—103 (1948a).

Khalil, F.: Excretion in reptiles. III. Nitrogenous constituents of the urinary concretions of the viviparous snake Eryx thebaicus, Reus. J. biol. Chem. **172**, 105—106 (1948b).

Khalil, F.: Excretion in reptiles. IV. Nitrogenous constituents of the excreta of lizards. J. biol. Chem. **189**, 443—445 (1951).

Khalil, F., and G. Haggag: Ureotelism and uricotelism in tortoises. J. exp. Zool. **130**, 423—432 (1955).

Khalil, F., and G. Haggag: Nitrogenous excretion in crocodiles. J. exp. Biol. **35**, 552—555 (1958).

Litwack, G., J. W. Bothwell, J. N. Williams jr. and C. A. Elvehjem: A colorimetric assay for xanthine oxidase in rat liver homogenates. J. biol. Chem. **200**, 303—310 (1953).

Moyle, V.: Nitrogenous excretion in chelonian reptiles. Biochem. J. **44**, 581—584 (1949).

Münzel, P.: Untersuchungen über die Harnstoffbildung bei Wirbeltieren. Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. **59**, 113—148 (1938).

Potter, V. R., and C. A. Elvehjem: A modified method for the study of tissue oxidations. J. biol. Chem. **114**, 495—504 (1936).

Ricceri, G.: La distribuzione della xantinossidasi nelle diverse specie di Uccelli. I. La presenza della xantinossidasi nel fegato delle diverse specie e il problema dell'uricosintesi negli Uccelli. Arch. Sci. biol. (Bologna) **37**, 605—610 (1953a).

Ricceri, G.: La distribuzione della xantinossidasi nelle diverse specie di Uccelli. II. La distribuzione della xantinossidasi negli organi delle diverse specie di Uccelli. Arch. Sci. biol. **37**, 611—618 (1953b).

Ricceri, G.: La distribuzione della xantinossidasi negli organi delle diverse specie die cheloni studiata in relazione al diverse carattere del loro metabolismo azotato e purinico. Arch. Sci. biol. **38**, 83—88 (1954).

Umbreit, W. W., R. H. Burris and J. F. Stauffer: Manometric technique and related methods for the study of tissue metabolism. Minneapolis, Minn.: Burgess publishing Co. 1947.

Vart, V.: Spectrophotometric determination of arginine-containing proteins in serums. Permanente Fdn med. Bull. **10**, 177—182 (1952).

Williams, J. N. jr.: A micro method for the determination of xanthine and guanine in urine. J. biol. Chem. **184**, 627—632 (1950).

Prof. Dr. Fouad Khalil,
Department of Zoology, Faculty of Science, Cairo UniversityGuiza (Egypt)

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 43, 278—281 (1960)

From the Department of Zoology, Faculty of Science, Cairo University, Guiza, Egypt

UREOTELISM AND URICOTELISM IN TORTOISES IN RELATION TO ARGINASE AND XANTHINE OXIDASE ACTIVITIES

By

FOUAD KHALIL and GABER HAGGAG

(Received April 1, 1960)

Introduction

Although arginase and xanthine oxidase were found to exist side by side in the liver of the tortoise, *Testudo leithii* (KHALIL and HAGGAG 1960), yet the main urinary nitrogenous excretory product of this animal was either urea or uric acid or both (KHALIL and HAGGAG 1955). This latter finding indicates that there are factors which sometimes favour the predominance of the activity of either arginase or xanthine oxidase. The present work represents a trial towards the elucidation of the nature of such factors.

However, MOYLE (1949) in his study on nitrogenous excretion in chelonian reptiles selected a group of eight different species from a variety of habitats. Some were aquatic, others were amphibious or semiaquatic, while still others were terrestrial from hygrophilous habitats and from xerophilous environments. He came to the conclusion that uricotelism exists in the dry-living xerophilous forms as *Testudo graeca*, but in species which enjoy a plenty of water supply living in marshy hygrophilous surroundings as *T. dentaculata* the animal is ureotele. Accordingly, humidity may be taken as one of the factors affecting the type of excretory nitrogen, yet, there should be other factors, since *T. graeca* which MOYLE himself took as an example of uricotelism in xerophilous tortoises was previously proved by CLEMENTI (1929) to be a ureotele excreting 90% of its total nitrogen as urea. MOYLEs view is also contradicted by the previous findings on *Testudo leithii* (KHALIL and HAGGAG 1955) where animals living under the same conditions of humidity behaved as ureotele or uricotele or ureo-uricotele.

The effect of diet as a determining factor on the type of nitrogenous excreta of *T. graeca* was raised by CLEMENTI (1952). He observed that, if the animal in summer is fed by lettuce, uric acid excreted becomes as high as 15—150 mg daily, whereas urea is only 5—7 mg. He also added that oral administration of ammonium carbonate increases the

amount of urea by 2—4 folds whereas the increase in uric acid was much less than that.

The effect of temperature as an influencing factor on urea formation was carried out by MÜNZLE (1938) and HEIDERMANNS (1938). Both authors stated that optimum temperature for urea formation is 37° C, and that at lower temperature, cold blooded animals can form urea more than warm blooded ones, while at higher temperatures the latters form more urea than the formers.

Therefore the effect of temperature on the activity of both enzymes responsible for the final formation of urea and uric acid, viz. arginase and xanthine oxidase is undertaken in the present work.

Material and Technique

Testudo leithii (GÜNTHER) was used for the present study. Preparation of liver homogenates and the methods of measuring the activity of arginase and xanthine oxidase are the same as those described in a previous paper (KHALIL and HAGGAG 1960).

The activities of both enzymes were measaured in samples obtained from one and the same animal at 10°, 20°, 30°, 40°, 50°, 55°, and 60° C with + 2° C.

Table. *Effect of temperature on the activity of xanthine oxidase and arginase of the liver of Testudo leithii*

Animal no.	Xanthine oxidase activity							Arginase activity						
	γ uric acid/mg tissue N incubated with xanthine							γ arginine HCl hydrolysed/mg tissue N						
	Time in hrs.	10 °C	20 °C	30 °C	40 °C	50 °C	55 °C	60 °C	Time in min.	10 °C	20 °C	30 °C	40 °C	50 °C	55 °C	60 °C
I	0	15.6	15.6	15.6	15.6	15.6	15.6		0	0	0	0	0	0	0	
	2	15.6	15.6	16.1	16.6	18.0	21.2		10	2562	4288	4288	2812	2012	2012	
II	0	13.7	13.7	13.7	13.7	13.7	13.7	13.7	0	0	0	0	0	0	0	
	2	13.7	14.3	14.8	15.2	15.8	16.4	16.8	10	250	2000	2000	1500	0	0	
III	0	14.4	14.4	14.4	14.4	14.4		14.4	0	0	0	0	0	0		0
	2	14.4	15.2	16.8	18.6	22.0		25.4	10	630	1063	1313	1063	813		625
IV	0	14.4	14.4	14.4	14.4	14.4		14.4	0	0	0	0	0	0		0
	2	14.4	15.0	16.6	17.2	17.2		17.6	10	3000	4000	4588	4588	3220		2000
V	0	20.6		20.6	20.6	20.6	20.6	20.6	0	0	0	0	0	0		0
	2	20.6		21.4	22.6	24.4		21.4	10	1750	3125	4063	5062	2250		437

Results and Discussion

The effect of temperature on the enzymatic activity of arginase and xanthine oxidase is shown in the table. The arginase activity is expressed as the rate of hydrolysis of arginine-HCl in gamma per each milligramme liver nitrogen. The activity of xanthine oxidase is expressed as the rate of formation of uric acid in gamma per each milligramme liver nitrogen.

The activity of xanthine oxidase was found to increase in all the five animals examined with rise of temperature, to 55° in the first animal and to 60° in the next three animals, but rise of temperature above 50° in animal V showed a decrease in the rate of uric acid formation.

Arginase activity, on the other hand, increased by rise of temperature from 10° to 20° in the first two animals, and to 30° in animal III and IV, but in animal V the increase in activity continued till 40° C. Above these temperatures, the activity of the enzyme was inhibited. Although these findings may lead to the assumption that temperature could be looked upon as a possible factor affecting the type of nitrogenous excretory product whether uric acid or urea, yet one has to take also into consideration that the activity of arginase even at the unfavourable temperatures is much higher than that of xanthine oxidase at its optimum temperature.

Therefore it is not only humidity (MOYLE 1942) or type of diet (CLEMENTI 1952) or temperature which determine the type of excretory product whether urea or uric acid but it is also the relative activity of the enzymes concerned which controls the predominance of one or the other of these excretory products.

Summary

1. Effect of temperature on the activity of arginase and xanthine oxidase was tested.

2. Althoug high temperature favours the activity of xanthine oxidase than arginase, yet the absolute activity of arginase at all temperatures tested was found to be higher than that of xanthine oxidase. Therefore the relative activity of the enzymes more than the temperature seems to affect the preponderance of urea or of uric acid.

References

CLEMENTI, A.: Caraterre ureotelico del metabolismo azotato dei chelonia. Atti Accad. naz. Lincei VI **9**, 505—503 (1929).

CLEMENTI, A.: Ulteriori Ricerche sul carattere duplico uricotelico e ureotelico del metabolismo azotato di Testudo graeca. Arch. Sci. biol. (Bologna) **36**, 10—22 (1952).

Heidermanns, C.: Über die Bildung des Harnstoffs bei Kaltblutern und seine Beziehungen zur Harnsäuresynthese. Zool. Anz. Suppl. (Verh. dtsch. zool. Ges.) **11**, 55—63 (1938).

Khalil, F., and G. Haggag: Ureotelism and uricotelism in tortoises. J. exp. Zool. **130**, 423—432 (1955).

Khalil, F., and G. Haggag: Xanthine oxidase and arginase in the liver and kidney of reptiles. Z. vergl. Physiol. **43**, 269—277 (1960).

Moyle, V.: Nitrogenous excretion in chelonian reptiles. Biochem. J. **44**, 581—584 (1949).

Munzel, P.: Untersuchungen über die Harnstoffbildung bei Wirbeltieren. Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. **59**, 113—148 (1938).

Prof. Dr. Fouad Khalil,
Department of Zoology, Faculty of Science, Cairo University, Guiza (Egypt)

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 43, 282—304 (1960)

Aus dem Zoologischen Institut der Albert Ludwigs-Universität
Freiburg i. Br.

RETINOMOTORISCHE VORGÄNGE IM LARVENAUGE DES RÜCKENSCHWIMMERS *NOTONECTA GLAUCA*

Von

ANNELIESE REIS, geb. SIEBEL

Mit 10 Textabbildungen

(Eingegangen am 5. Februar 1960)

Inhaltsverzeichnis

Seite

Einleitung 282
Material und Methode 283
Dämmerungssehen 285
Veränderungen der Retinomotorik eines Einzelommas während der Larvenentwicklung 290
Retinomotorik der Larvenaugen im zwischenschwelligen farbigen Licht . . 292
Zum Purkinje-Phänomen 298
Zusammenfassung 302
Literatur 303

Einleitung

Nach ROKOHL (1942) können Imagines und Larven des Rückenschwimmers *Notonecta glauca* im optomotorischen Versuch Farben sehen; wie jedoch Teillackierungen zeigten, sind nur die dorsalwärts blickenden, schon im Embryo angelegten und braun pigmentierten Ommen mit den größten Öffnungswinkeln voll farbempfindlich. Die postembryonal von Häutung zu Häutung nur noch am vorderen und ventralen Augenrande nachwachsenden Ommen sind farbenblind, rot pigmentiert und haben kleinere Öffnungswinkel; sie bauen vor allem den ventralen Augenteil auf. BEDAU (1911) spricht zwar von einem funktionellen Doppelauge der Imagines, doch ist die Grenze zwischen beiden Augenteilen unscharf; beide gehen fließend ineinander über. In den Neuromматidien und im Gehirn sah man solch eine Zweiteilung bisher nicht.

Nach früheren Untersuchungen soll im Auge des erwachsenen Rückenschwimmers ebenso auch die Helligkeitsempfindlichkeit von hinten nach vorn hin abnehmen. Hier ist zu prüfen, ob diese Leistungsunterschiede schon im ersten Larvenstadium voll ausgebildet sind, ferner ob die von LÜDTKE (1953) beim erwachsenen Rückenschwimmer entdeckte Retinomotorik und das damit verknüpfte, für Insekten spezifische Purkinje-Phänomen auch von Anfang an bestehen bzw. wie sie sich entwickeln.

Herrn Professor H. Lüdtke danke ich für die Überlassung des Themas und seine ständige Beratung, Herrn Professor G. Birukow für wertvolle Hinweise, Herrn Professor O. Koehler für sein Interesse und die Überlassung eines Arbeitsplatzes.

Material und Methode

Die in der näheren Umgebung Freiburgs gefangenen Larven blieben vor dem Versuch einen Tag im Aquarium mit Taufliegen und anderen lebenden Insekten als Nahrung.

Helladaptiert wurden sie an diffuses Himmelslicht im Schatten eines Gebäudes. Dämmerlicht: eine weiße Pappscheibe warf das Licht der mit Pergamentpapier verhangenen Fenster gegen die blendend weiß getünchte Zimmerdecke. Bei wolkenlosem Himmel verdunkelte ich das Versuchsfeld durch einen Rolladen auf die Helligkeit, wie sie bei völliger Bewölkung auf der Tischplatte lag. Die Larven saßen in einer mit nassem Fließpapier ausgelegten Glasschale auf einer fast geräuschlos laufenden Drehscheibe (1 U/min), die in einem 48,5 cm hohen, oben offenen und innen mattgeschwärzten Kasten stand. Da die Tiere sich auch ununterbrochen bewegten, war eine gleichmäßige Beleuchtung aller Augenteile gesichert. Mit Photozelle und Galvanometer stellte ich die gewünschten Adaptationsintensitäten (2,25, 2,0, 1,75, 1,50, 0,50, 0,10 oder 0,05 Lux) ein und prüfte sie alle 15 min nach.

Zur Dunkeladaptation sperrte ich meist mehrere Tiere auch verschiedener Stadien in einen lichtdicht schließenden Kasten. Jede Versuchsgruppe wiederholte ich 5—6mal.

Zur Adaptation an einfarbiges Licht diente ein lichtdichter Kasten, in dessen Vorderseite sich Farbfilter (s. unten) einsetzen ließen. Erst wenn die Lichtintensität über 15 min hinweg konstant blieb, kamen 3—5 Larven in die mit nassem Fließpapier ausgelegte Glasschale auf der Drehscheibe. 105 min reichten für eine Adaptation an die vorgegebene Farbe und Helligkeit immer aus. Jede Farbversuchsserie wiederholte ich 4mal in Abständen bis zu 1 Jahr.

Die Spektralfarbfilter hatten nach Angabe der Herstellerfirma (Schott & Gen.) einen höchsten Durchlaßgrad von $T_{max} \approx 40\%$. Die Orte höchster Durchlaßgrade (λ_{max}) lagen in folgenden Spektralbereichen: Blau 430—460 mμ, Grün 520 bis 550 mμ, Gelb 575—595 mμ, Orange 595—625 mμ und Rot 625—660 mμ; Halbwertsbreiten zwischen 8 und 22 mμ. Bei den hier notwendig niederen Intensitäten war es weder sinnvoll noch möglich, die mit diesen Filtern gewonnenen Adaptationsfarben quantengleich zu machen. Daher prüfte ich an ausreichend vielen Larven aller Stadien, ob es irgendeine Folge solcher zwischenschwelligen (s. unten) Intensitätsstufen gäbe, bei deren wechselweisem Gebrauch sich die relativen Vorschubwerte der Sehstäbe für möglichst viele Farben gleichsinnig und annähernd gleichstark änderten. Für das 3. Larvenstadium (L III) fand ich drei ausreichend benachbarte Intensitätsstufen, welche die genannten Bedingungen für Rot, Gelb und Blau weitgehend erfüllten (vgl. Abb. 10, III). Die Intensitäten verhielten sich wie $1 : {}^1/_5 : {}^1/_{10}$ (im Text: J_1, $J_{1/5}$, $J_{1/10}$). Die Größenordnung dieses Intensitätsbereichs ließ sich annähernd bestimmen: Mit Gelb J_1 erhielt ich einen gleichstarken retinomotorischen Effekt wie mit 0,5 Lux Tageslicht. Blau J_1 und Rot J_1 lagen in derselben Größenordnung. — Ähnlich dem Vorgang Lüdtkes (1935) bezeichne ich die Intensität, bei welcher der Vorschub der Sehstäbe einsetzt, als *Hochschwelle*. Unter der *Tiefschwelle*, die hier nicht behandelt werden soll, verstehe ich dann die Reizschwelle schlechthin, d. h. die niedrigste, eben noch wirksame Lichtintensität. Die gesamte Retinomotorik läuft also in einem *zwischenschwelligen* Bereich ab.

Die im jeweiligen Versuchslicht bzw. im Dunkeln getöteten Tiere fixierte ich nach MÜLLER (1954). Das Gemisch nach ZENKER bewährte sich nicht, es verhinderte nicht postmortale Veränderungen im Auge.

Schnittrichtungen (wie bei LÜDTKE 1953):

1. augenfrontal (dorso-ventral und parallel zu der durch Quer- und Hochachse des Tieres gebildeten Ebene),

2. augensagittal (dorso-ventral und parallel zu der durch Längs- und Hochachse bestimmten Ebene),

3. augenquer (medio-lateral und parallel zu der durch Längs- und Querachse bestimmten Ebene).

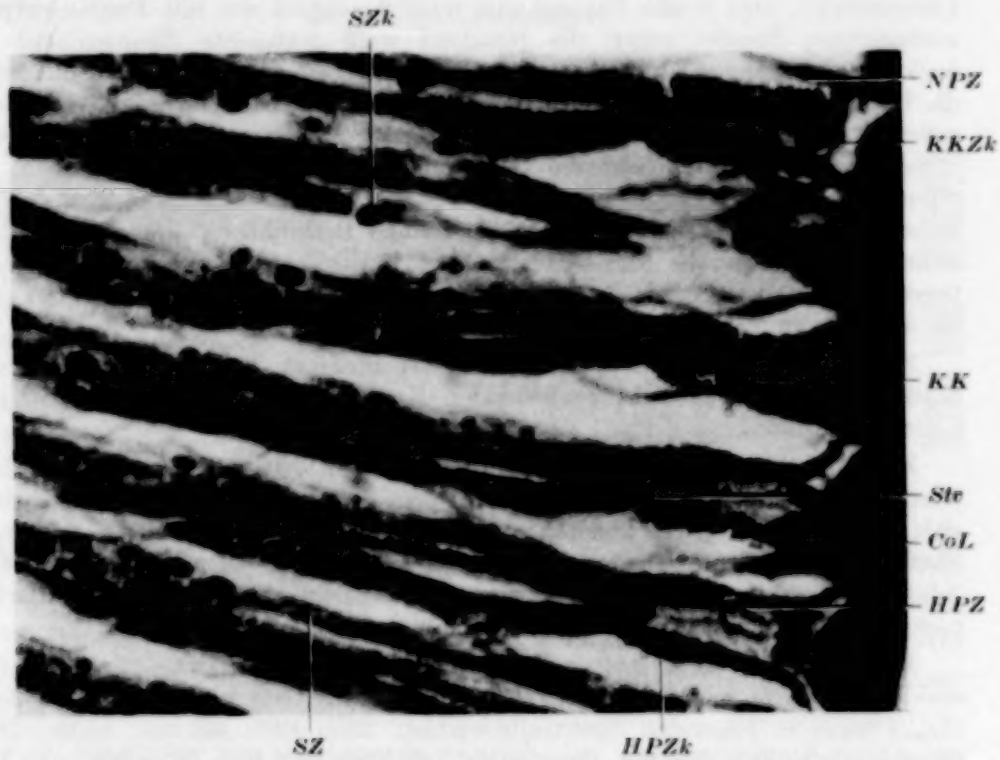

Abb. 1. Längsschnitt durch mehrere Ommatidien (L III) nach Adaptation der Sehelemente an 1,75 Lux (Weiß). *CoL* Cornealinse, *HPZ* Hauptpigmentzelle, *HPZk* Kern einer Hauptpigmentzelle, *KK* Kristallkegel, *KKZk* Kern einer Kristallkegelzelle, *NPZ* Nebenpigmentzelle, *Ste* Sehstabvorschub, *SZ* Sehzelle, *SZk* Kern einer Sehzelle

Schnittdicke: 5—7 μ.

Die je nach Alter 12—36 Std in 2%iger wäßriger Lösung von Kaliumpersulfat gebleichten Schnitte färbte ich nach HEIDENHAIN.

Alle Beobachtungen und Messungen bezog ich auf den Zustand der vollständigen Helladaptation. Diese war nach 20 sec Aufenthalt der Tiere in überhochschwelligem Tageslicht (s. oben) stets und unabhängig von jeglichen vorangegangenen Lichtbedingungen gesichert. Die helladaptierten Kontrolltiere tötete und fixierte ich im Freien.

Abgesehen von der dem Larvenauge eigenen Zuwachszone entspricht sein histologisches Bild dem der imaginalen Augen genau (LÜDTKE 1940). Es ist ein echtes Appositionsauge (Abb. 1). Hier wie dort wölben sich die Cornealinsen nach außen schwach und nach innen stark vor. 18 Nebenpigmentzellen fassen das Omma in ganzer Länge ein. Je 2 Hauptpigmentzellen umhüllen den Kristallkegel und isolieren ihn optisch. Wie bei der Imago umschließen 6, in 3 Paaren angeordnete

Sehzellen eine unpaare zentrale Sehzelle. Die Sehstäbe neigen ihre distalen, wenig verdickten Enden leicht zueinander und lassen auch bei den Larven zumindest in ihren mittleren Teilen eine Querstreifung (LÜDTKE 1953) deutlich erkennen. Die Kerne der Sehzellen liegen zwar individuell sehr verschieden hoch, aber stets ist in helladaptierten Ommen der Stadien L I bis L IV immer das distale Drittel, bei L V sogar die distale Hälfte der Sehzellen kernfrei.

Nur in vollständigen Schnittserien trifft man beim Auszählen und Vermessen mit Sicherheit immer wieder gleiche Augenzonen. Alle Stadien vermaß ich bei 500facher Vergrößerung. Da die absoluten Meßwerte individuell leicht schwanken, sind die Sehstabverlängerungen in Prozenten der Sehzellenlänge des ausreichend helladaptierten Auges angegeben. Für jede Kombination von Lichtintensität und -qualität liegen Meßwerte von 3—6 Augen (3—5 Tiere) vor; für jeden Meßpunkt der mitgeteilten Kurven und Tabelle ist $n = 16$—30.

In der Regel verlängern sich alle Sehstäbe eines Larven-Ommatidiums gleichstark. Unterschiede liegen im Fehlerbereich des Meßverfahrens. Weil der zentrale Sehstab aber im Zweifelsfalle den größeren Vorschub hatte und im Schnittbild sich auch stets am deutlichsten abhob, wurde er bevorzugt. Den Ergebnissen liegen 1300 vollständige aus 6000 geschnittenen Augen ausgewählte Schnittserien mit exakt gleichbleibender Schnittrichtung zugrunde.

Dämmerungssehen

Wie bei den Imagines (LÜDTKE 1953) kann man auch bei den Larven den Adaptationsverlauf der Augen an der Retinomotorik ablesen. Für die Helladaptation (HA) reichen 15—20 sec Aufenthalt im überhochschwelligen Licht vollends aus. Die Dunkeladaptation (DA) ist erst nach 90 min beendet.

a) Die Hochschwelle. Voruntersuchungen ließen bereits erkennen, daß die Sehstäbe der Larven aller Stadien bei einer annähernd gleichen Tageslicht-Intensität sich zu verlängern beginnen. Für die Larven I—III setzt die Retinomotorik bei einer Beleuchtungsstärke zwischen 2,25 und 2,0 Lux ein. Die Sehstäbe der Larvenstadien IV und V verlängern sich eindeutig erst im Adaptationslicht von 1,75 Lux Beleuchtungsstärke (Abb. 2). Die älteren Larven haben also die gleiche Hochschwelle wie die Imagines (LÜDTKE 1953).

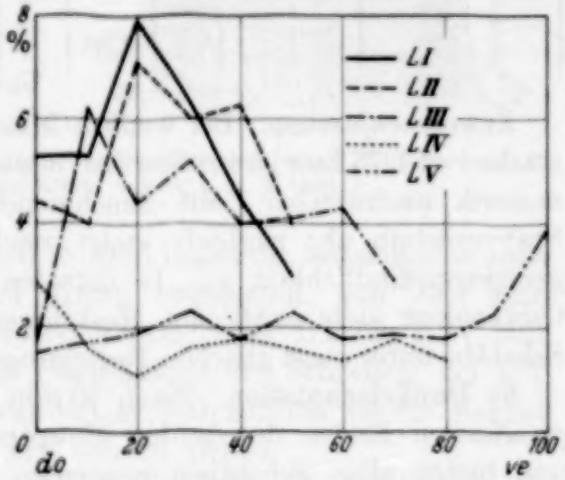

Abb. 2. Relative Stabverlängerungen in Prozent der Sehzellenlänge (Ordinate) in medialen von dorsal (*do*) nach ventral (*ve*) aufeinanderfolgenden Ommen (Abszisse). Beleuchtungsstärke 1,75 Lux (Weiß); Schnittrichtung: sagittal

Nahe der Hochschwelle beobachtete ich keine Pigmentwanderungen. Die Hauptpigmentzellen und die Kristallkegelzellen weichen auseinander

und geben den vordrängenden Sehstäben Raum frei. Die Lage der Sehzellkerne bleibt unverändert.

Wie bei den Imagines sind auch bei allen Larven die Stabverlängerungen in den verschiedenen Augenteilen ungleich groß. Die Höchstwerte fand ich in weit dorsal (Abb. 2) bzw. lateral liegenden Ommen. Von Häutung zu Häutung nehmen sowohl die relativen wie auch die absoluten Vorschubwerte ab (vgl. Tabelle).

Tabelle. *Länge helladaptierter lateraler Sehzellen (A), absoluter (B) und relativer (C) Stabvorschub nach Adaptation an 1,75 Lux Tageslicht bei allen 5 Larvenstadien (L I—V). Augen frontal geschnitten. n = 16—30 je Tabellenwert.*
do dorsal, ve ventral

Omma	L I			L II			L III			L IV			L V		
	A µ	*B* µ	*C* %	*A* µ	*B* µ	*C* %	*A* µ	*B* µ	*C* %	*A* µ	*B* µ	*C* %	*A* µ	*B* µ	*C* %
do 1.	—	—	—	—	—	—	86,1	3,1	3,6	—	—	—	135,4	4,0	3,0
10.	54,3	3,9	7,2	85,3	5,8	6,8	103,0	0,4	0,4	124,4	3,0	2,4	146,6	3,8	2,6
20.	61,6	5,1	8,3	83,2	5,6	6,7	110,1	2,8	2,5	136,3	3,7	2,7	162,5	2,6	1,6
30.	70,7	4,1	5,8	90,8	5,1	5,6	125,9	4,8	3,8	136,7	3,7	2,7	171,6	1,7	1,0
40.	62,2	3,2	5,1	99,9	4,4	4,4	126,3	4,1	3,3	158,7	4,1	2,6	182,5	2,4	1,3
50.	56,7	2,3	4,1	98,8	4,1	4,2	128,1	4,4	3,4	157,2	2,3	1,5	181,9	2,1	1,2
60.	—	—	—	98,5	3,9	4,0	120,6	3,1	2,6	156,0	1,9	1,2	184,2	1,8	1,0
70.	—	—	—	—	—	—	104,6	2,9	2,8	142,9	1,9	1,3	171,5	1,5	0,9
80.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	161,9	2,6	1,6
90.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	162,4	5,3	3,3
ve100.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	169,2	4,3	2,5

Zusammenfassung. Bei weißem Mischlicht mit einer Beleuchtungsstärke von 1,75 Lux ist in allen Larvenaugen jeden Alters bereits Retinomotorik nachweisbar. Mit zunehmendem Alter nimmt der relative Stabvorschub ab; zugleich steigt nach OHNESORGE (1955) die Allgemeinempfindlichkeit an. In dorsalen Ommen, deren Reizung nach OHNESORGE stets kräftigere Reaktionen auslöst, verlängern sich die Sehstäbe unter sonst gleichen Bedingungen stets stärker als in ventralen.

b) Dunkeladaptation. Nach 90 min Dunkelaufenthalt klaffen die proximalen Enden der beiden Hauptpigmentzellen weit auseinander und bieten allen Sehstäben bequemen Durchlaß. Die distalen Stabenden drücken die Kristallkegelzellen so intensiv auseinander, daß sie diese und im besonderen ihre Kerne stark verlagern und zuweilen geradezu deformieren (Abb. 3). Die verdickten Stabenden sind schwächer gefärbt als nach Helladaptation. Bei L I lassen sie sich oft nur schwer von den Kristallkegelzellen abgrenzen. — In den Neben- und Retinulapigmentzellen ist das Pigment ein wenig in Richtung zu den Zellenden gewandert; das Sehzellenpigment bleibt unverändert.

Die Retinomotorik ist eindeutig am stärksten bei den jüngsten Larven und wird von Häutung zu Häutung schwächer (Abb. 4). Die

relativen Vorschubwerte sind auch beim selben Tier ungleich groß. Bei L I bis L III fand ich die Höchstwerte nahe beim dorsalen Augenrand. Dieser Ort ist vom medialen und lateralen Augenrand etwa gleichweit entfernt. Im Laufe der postembryonalen Entwicklung verlagert er sich zwar ventralwärts, verläßt die dorsale Augenhälfte aber nie (Abb. 5a). Auf Querschnitten durch die Augenmitte findet man den Ort der größten Stabverlängerung während der ersten drei Stadien beim 15. vom hinteren Augenrande gezählten Omma. Da das Auge nur am Vorderrande weiterwächst, rückt dieses Omma bei jeder Häutung dem Augenhinterrande relativ näher (Abb. 5). Bei L IV und L V gibt es in den über Augenmitte gelegten Querschnitten keine bevorzugten Orte dieser Art.

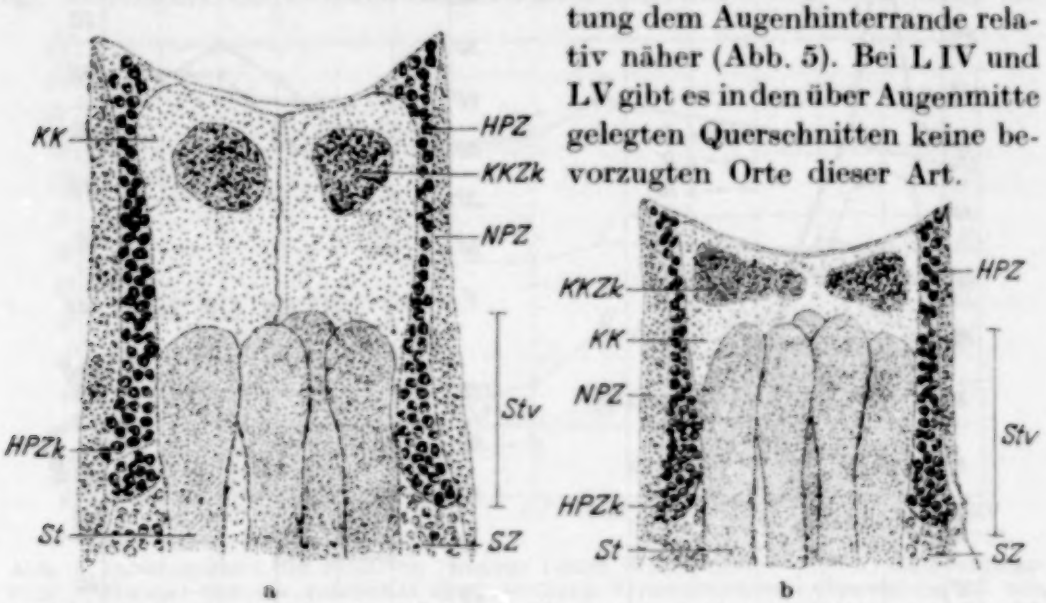

Abb. 3a u. b. Stabvorschub nach vollständiger Dunkeladaptation. a bei L I und b bei L V. *St* Sehstab. Sonstige Bezeichnungen wie Abb. 1. M 1800 : 1

Genau wie nach Helladaptation (S. 285) liegen die Sehzellkerne auch nach Dunkeladaptation in einer streng begrenzten, nun aber zum distalen Ende der Sehzellen versetzten Zone. Bei L I bis L IV läßt diese nur das distale Viertel der Gesamtlänge der Sehzellen, bei L V noch weniger kernfrei. Der vorwandernde Stab scheint wie ein Magnet die Kerne in distaler Richtung mit sich zu ziehen.

Im völligen Dunkel verlängern sich die Stäbe 2—3mal mehr als im Licht vom Schwellenwert 1,75 Lux (Abb. 4). Zugleich behält aber der Ort der größten Stabverlängerungen seine Lage.

c) Das Sehen im zwischenschwelligen Licht. Wie die Stabvorschübe sich bei Intensitätsabnahme ändern, prüfte ich bei folgenden Zwischenstufen des Adaptationslichtes: 1,50 (nur bei L IV und L V), 0,50, 0,10 und 0,05 Lux. Ebenso wie nach vollständiger Dunkeladaptation sind auch hier die Sehstabverlängerungen in den Ommen der jüngsten Larven relativ größer als in denen der ältesten Larven. Die Meßwerte ordnen sich nach dem Larvenalter.

Je jünger die Larven sind, desto mehr hebt sich in der dorsolateralen Augenregion eine Zone mit besonders kräftiger Stabverlängerung ab. Bei L V ist diese aber kaum noch abzugrenzen, weil mit zunehmendem Larvenalter sich der retinomotorische Effekt im Gesamtauge ausgleicht.

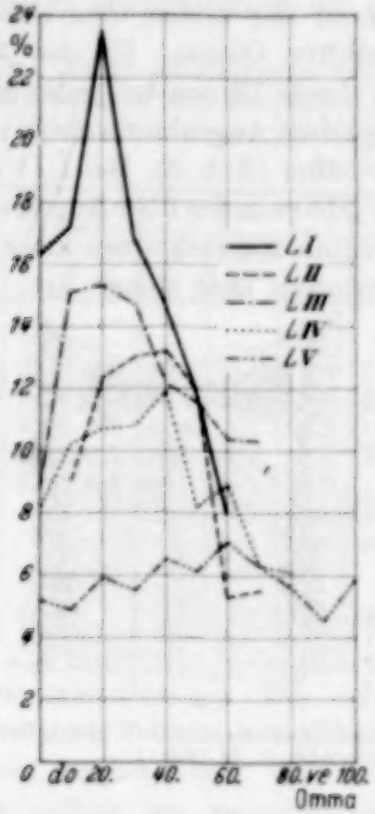

Abb. 4

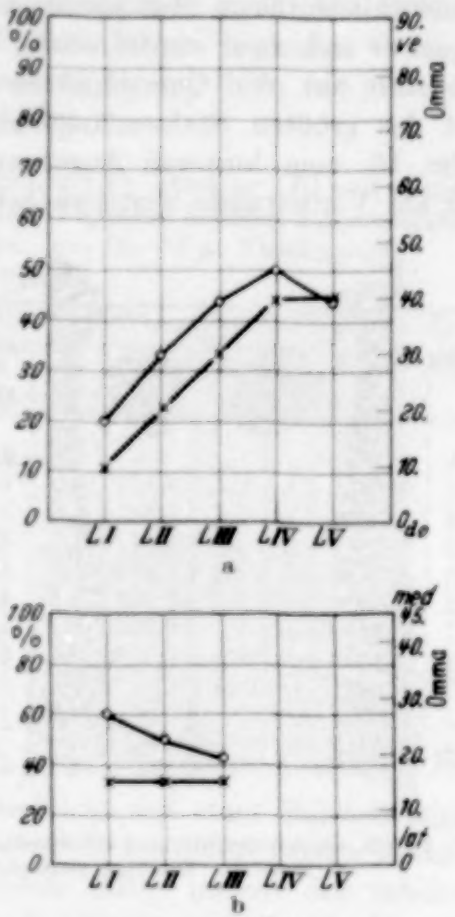

Abb. 5

Abb. 4. Relative Stabverlängerungen in Prozent der Sehzellenlänge (Ordinate) in von dorsal (*do*) nach ventral (*ve*) aufeinanderfolgenden Ommen (Abszisse) nach vollständiger Dunkeladaptation. Schnittrichtung: sagittal

Abb. 5. Absolute (—×—×—; rechte Ordinaten) und relative (—○—○—; linke Ordinaten) Verschiebung des Ortes größter Stabverlängerung in dorso-ventraler (a) und mediolateraler (b) Richtung während der postembryonalen Augenentwicklung (Abszissen)

Entgegen aller Erwartung ist bei den Larven der Stadien I und II die Stabverlängerung bei 0,05 Lux statistisch gesichert ($n = 30$) größer als nach Adaptation bei 0,001 Lux oder völliger Dunkelheit (> 2 Std DA). Ob diese „rückläufige Retinomotorik" auch optomotorisch nachweisbar ist, bleibt noch zu untersuchen. Diese Beobachtung ist vielleicht mit der Vorstellung vereinbar, daß die gesamte Adaptation aus zwei getrennten, im wesentlichen nacheinander wirksamen Vorgängen besteht, die sich nur wenig überdecken. LÜDTKE (nach mündlichem Bericht) hat schon am erwachsenen Rückenschwimmer dazu Passendes

beobachtet. Aber auch durch die folgenden eigenen Befunde an den Larvenaugen läßt sich diese Annahme stützen.

Bei unveränderter Versuchsanordnung ist die *quantitative Abhängigkeit der retinomotorischen Wirkung von der Beleuchtungsstärke* des Adaptationslichtes zu untersuchen. Vergleichbare Lage der zu untersuchenden Ommen bei allen Individuen desselben Stadiums ist wichtig. Unwichtig dagegen ist es, ob man mit absoluten oder relativen Zuwachswerten arbeitet. Das hellste Adaptationslicht (2,25 Lux) ist überhochschwellig. — Nimmt die Beleuchtungsstärke schrittweise von 2,25 (hell) bis

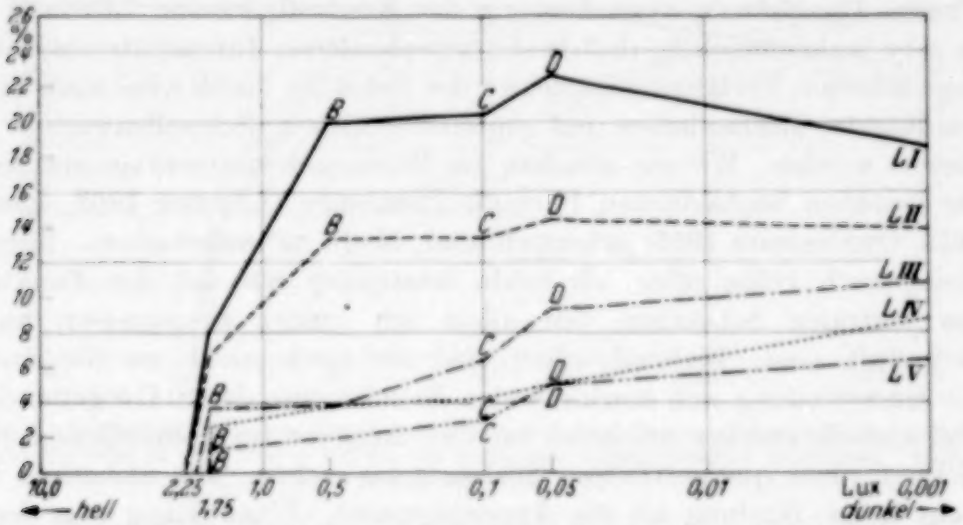

Abb. 6. Abhängigkeit der relativen (Bezug: Länge der Sehzelle = 100 %) Stabverlängerung (Ordinate) von der Intensität des jeweiligen Versuchslichtes (Abszisse) im 20. von dorsal gezählten Omma bei allen 5 Larvenstadien. Weitere Erklärungen im Text

auf 0,05 bzw. 0,001 Lux (dunkel) ab, so verlängern sich die Sehstäbe bei allen fünf Larvenstadien übereinstimmend mit zwei mehr oder weniger deutlichen Unstetigkeiten (Abb. 6). Auf die erste Phase starken Stabvorschubs kurz nach dem Übergang vom Hell- zum Dämmerungssehen (Hochschwelle: 2,25 Lux bzw. 2,0—1,75 Lux) folgt eine zweite (Abb. 6, *B*—*C*), in der die Stäbe auch bei weiterer Schwächung des Adaptationslichtes sich nur unbedeutend oder überhaupt nicht verlängern. Sie beginnt bei 1,5 Lux (L III bis L V) bzw. bei 0,5 Lux (L I bis L II) und endet für alle Stadien übereinstimmend bei 0,1 Lux. Die Mittelwertpaare ($n = 30$) für Beginn und Ende dieser Phase (Abb. 6, *B*—*C*) sind identisch ($m_{Diff} < 2$). Nur bei L III ist die Identität nicht gesichert. — Fällt die Beleuchtungsstärke nochmals von 0,1 auf 0,05 Lux, so folgt bei allen Stadien ein zweiter Vorschub (*C*—*D*). Die Mittelwertpaare ($n = 30$) für die Meßpunkte *C* und *D* sind mit Ausnahme bei L IV nicht identisch; m_{Diff} ist stets größer als 3. Statistisch gesehen haben die Sehstäbe aller Larvenstadien bei 0,05 Lux ihre größte Länge

erreicht. Bei noch geringeren Intensitäten verlängern sie sich bei L III bis L V nur noch unbedeutend; die von L I und L II werden sogar wieder kürzer. Diese Phasenfolge mit zweimaligem Stabvorschub gilt also für Larven aller Stadien. Bei den älteren Larven liegt der Beginn der zweiten Vorschubphase wahrscheinlich etwas früher (0,5 Lux) als bei den jüngeren (0,1 Lux). Wie Abb. 6 weiterhin lehrt, wird der Vorschub der Sehstäbe bei L I und L II in der ersten Phase am wirksamsten (90% der Gesamtverlängerung) gefördert; bei L III bis L V verteilt er sich ungefähr je zur Hälfte auf die erste und auf die nachfolgende Phase. Unabhängig vom Ausgang der Kontrollversuche Lüdtkes ist es sehr wahrscheinlich, daß beide, verschiedenen Intensitätsintervallen zugeordneten Verlängerungsphasen der Sehstäbe durch zwei noch nicht lokalisierte Mechanismen mit unterschiedlichen Schwellenwerten gesteuert werden. Wie sie mit dem am Rückenschwimmerauge erstmalig für Insekten beobachteten Purkinje-Phänomen (Lüdtke 1953, Resch 1954, Ohnesorge 1955) gekoppelt sind, bleibt zu untersuchen. Ebenso bleibt auch völlig offen, ob beide tatsächlich nur mit der Funktion des zentralen Sehstabes, den allein ich immer ausgemessen habe, verknüpft sind. Wahrscheinlich sind sie auch nicht an die durch die Querstreifung sich markierenden Bauelemente der Stäbe gebunden. Viel aussichtsreicher erscheint es, ihre Auslöser im kolbenförmig verdickten, nicht quergestreiften Stabende zu suchen. Mit Sicherheit besteht keine Bindung an die Augenpigmente. Unabhängig von deren Farbe war die Retinomotorik in den ventralen wie in den dorsalen Ommen unterschiedslos in zwei Phasen aufgeteilt.

Veränderungen der Retinomotorik eines Einzelommas während der Larvenentwicklung

Die Ergebnisse optomotorischer Versuche mit teilweise geblendeten Larven und Imagines des Rückenschwimmers reichten nicht hin, „die postembryonale Verschiebung der Helligkeitswerte allein auf den Zuwachs von Häutung zu Häutung physiologisch andersartiger Ommen zurückzuführen". Als Alternative bot sich die Annahme an, daß alle Ommen vom Funktionsbeginn „bis zum Abschluß der Gesamtentwicklung ihre Leistung ändern" (Ohnesorge 1955).

Die Augen von L I bestehen ganz und die von L II fast ausschließlich aus den bereits embryonal angelegten Ommen. Bei der Orientierung im Raum leisten sie aber nahezu das gleiche wie imaginale Augen. Den Leistungswechsel prüft man am besten an embryonal angelegten Einzelommen bzw. ausreichend kleinen Ommengruppen. Ihr relativer, numerisch abzählbarer Abstand vom unveränderlichen dorso-lateralen Augenrand bleibt während der ganzen Larvenzeit erhalten. Dort beginnend zählte ist stets das 20. Omma ab, das bei L I und L II etwa

in Augenmitte, bei L III bis L V bereits im dorsalen Augenteil liegt. Je 30 Tiere aller Stadien ließ ich bei den in Abb. 7 genannten Beleuchtungsstärken ausreichend adaptieren und maß dann die Sehstabverlängerungen des „20. Ommas". Die relativen, auf die Sehzellenlänge bezogenen Vorschubwerte nehmen mit zunehmendem Larvenalter ab. Die Frage, ob es sich um eine allgemeine Schwellenerniedrigung handelt, ist in diesem Zusammenhange zunächst unwichtig. Die in Abb. 7 für jedes Stadium gleich 100 gesetzten Höchstwerte lagen für L I und L II bei 0,05 Lux, für L III bis L V bei praktisch völliger Dunkelheit. Alle

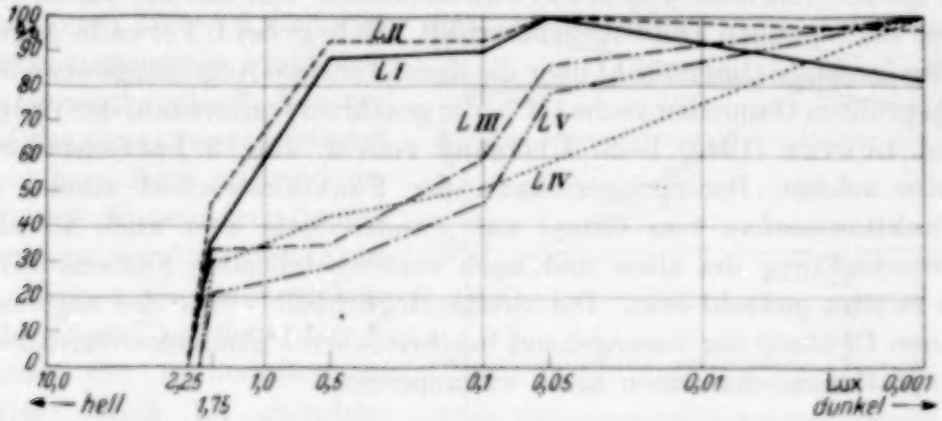

Abb. 7. Stabverlängerungen (Ordinate) im 20. dorsalen Omma (Bezug: Höchstwert des Stabvorschubs je Stadium = 100 %) bei sinkender Lichtintensität (Abszisse). Weitere Erklärungen im Text

anderen Vorschubwerte lassen sich in Prozenten der Höchstwerte angeben. Offensichtlich ändert sich der Modus der Retinomotorik entscheidend während der zweiten Larvenhäutung (L II → L III). Solange das 20. Omma in bzw. nahe der Augenmitte lag, haben seine Sehstäbe bei L I und L II bereits bei 0,5 Lux 87% bzw. 94%, bei L III, L IV und L V dagegen nur 33—50% ihres größtmöglichen Vorschubs erreicht. Erst nach Adaptation an 0,01 Lux erhielt ich bei diesen älteren Larven Meßwerte um 90%. Modellversuche stützen die Annahme, daß die Retinomotorik, d. h. der Vorschub des Sehstabes in den Kristallkegel hinein, der Sehzelle eine intensivere Ausbeute der angebotenen Lichtmenge gestattet. Wenn das hier untersuchte 20. Omma von L III ab diesen Vorteil nicht mehr in vollem Maße nutzt, dürften die dorsolateralen Ommen der 3.—5. Larvenstadien zumindest im hier untersuchten Intensitätsbereich relativ lichtempfindlicher sein als die der ersten und zweiten. Die dorsalen Ommen der Imagines haben sicher niedere Schwellen als die ventralen (Lüdtke 1938, 1940).

Dieselben Wirkungen wie am 20. kann man auch an anderen Ommen nachweisen. Zum Beispiel zeigt das bei L I weitest ventral gelegene 50. Omma (gezählt in dorso-ventraler Richtung) nach Adaptation an

0,5 Lux eine weit stärkere Retinomotorik als im Stadium V, wo es in die Mitte des Gesamtauges gerückt ist. Vermutlich machen überhaupt alle Ommen, abgesehen von den während der letzten Häutung hinzukommenden, einen solchen Funktionswechsel durch, von dem wir nur einzelne Symptome kennen, ohne sein Wesen zu verstehen. Doch ist er geeignet, den physiologischen Plan, nach dem das Auge als Ganzes arbeitet, in allen Larvenstadien und bei der Imago unverändert zu halten. Er ist um so größer, je näher das Omma der Grenze von Dorsal- und Ventralauge liegt und je mehr Ommen bei der betreffenden Häutung am medio-ventralen Augenrand hinzukommen. Für das 20. Omma sind diese Bedingungen weitestgehend erfüllt. Es liegt bei L I etwa in Augenmitte (gesamte Ommenzahl über die dorso-ventrale Augenlänge etwa 50). Den größten Ommenzuwachs (21% der gesamten Ommenzahl der Imago) fand Lüdtke (1940) beim Übergang vom 2. zum 3. Larvenstadium. Unter solchen Bedingungen kann der Funktionswechsel einmal als „Funktionsumbau von Grund auf", andererseits aber auch als eine Überschichtung des alten und noch weiterbestehenden Systems durch ein zweites gedacht sein. Die zweite Möglichkeit würde der angenommenen Deutung der vorangehend beschriebenen Phänomene durch zwei Adaptationsmechanismen nicht widersprechen.

Retinomotorik der Larvenaugen im zwischenschwelligen farbigen Licht

a) Rot. Wie beim weißen Mischlicht wandern auch die Sehstäbe der im intensitätsschwachen Rot adaptierten Augen vor und schieben sich zwischen die Kristallkegelzellen. Weil bei den Larven der ersten Stadien alle Sehstäbe desselben Ommatidiums sich um den gleichen Betrag verlängern und weil der Stab der zentralen 7. Sehzelle stets der deutlichst erkennbare ist, habe ich des Vergleichs wegen bei Augen aller Larvenstadien nur ihn gemessen. Er reagiert, wie im folgenden gezeigt wird, auf Intensitäts- und auf Qualitätsunterschiede des Adaptationslichtes. Die Stäbe der 6 ihn ringförmig umgebenden Sehzellen zeigen unter sich auch eine farbspezifische, aber wegen der Kleinheit der Objekte nicht auswertbare Retinomotorik.

Die *absoluten* Vorschubwerte der Stäbe wachsen nicht proportional mit der Sehzellenlänge, sie bleiben vielmehr bei allen Larvenstadien ungefähr gleichgroß. Das gilt für alle Rotintensitäten. Die *relativen* Vorschubwerte sind also im allgemeinen bei L I am größten und nehmen von Häutung zu Häutung ab.

Bei der *optomotorischen* Prüfung der Rückenschwimmerlarven (Ohnesorge 1955) nahm der Weißanteil des dem Rot subjektiv gleichhellen Graus mit dem Larvenalter zu. Der „Aufhellungskoeffizient" zwischen L I und L V war dort für helladaptierte Larven bei Rot ungefähr 4. Man kann annehmen, daß der relative Stabvorschub unter anderem

auch ein Ausdruck für den subjektiven Helligkeitswert der Farben ist. Der von mir im Vergleich mit dem Tageslicht aus den Stabverlängerungen errechnete „Aufhellungswert" nähert sich vor allem für die dorsalen Ommen dem oben genannten weitgehend. Für seitliche Ommen liegt er etwas höher. — OHNESORGE erklärte weiterhin, daß die subjektiven Helligkeitswerte der Farben oft über mehrere Häutungen hinweg konstant bleiben, sich dann aber nach der folgenden Häutung sprunghaft ändern können.

Bei den Larven aller Stadien ist die Retinomotorik immer am stärksten in einer schmalen Zone des Dorsalauges, welche quer über das Auge vom hinteren zum vorderen Augenrande leicht ventral geneigt verläuft. Bezogen auf das Gesamtauge verlagert sich diese Zone während der larvalen Entwicklung jedoch zum hinteren Augenrande hin.

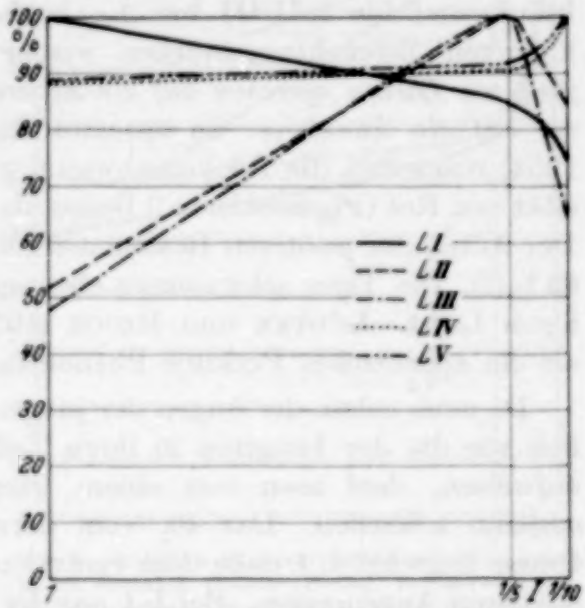

Abb. 8. Relative Stabverlängerungen (Ordinate) im 20. dorsalen Omma (Bezug: Höchstwert des Stabvorschubs je Stadium = 100 %) nach Adaptation an Rot fallender Intensität (Abszisse). Weitere Erklärungen im Text

Ebenso wie im zwischenschwelligen Tageslicht (Abb. 6) nimmt der retinomotorische Effekt auch im zwischenschwelligen roten Adaptationslicht mit zunehmendem Alter der Tiere ab. Ein Vergleich der Ergebnisse beider Versuchsserien gestattet zwar relativ gute Aussagen über die subjektiven Helligkeitswerte der farbigen Lichter, aber nur sehr vorsichtig anwendbare über eine mögliche Empfindlichkeitssteigerung der Larvenaugen während der postembryonalen Entwicklung.

Nach Adaptation im unbunten Dämmerlicht (Tageslicht) erreichen die Sehstabvorschübe der Larven L I und L II ihre Höchstwerte nicht bei den niedersten Intensitäten oder völliger Dunkelheit, sondern bereits bei 0,05 Lux. Bei weiterem Absinken der Intensitäten werden die Meßwerte wieder kleiner (Abb. 6). Bei L III bis L V steigen sie im gleichen Intensitätsbereich ununterbrochen an. Vergleichbares fand ich auch nach Adaptation im Rotlicht (Abb. 8). Bei dem von dorsal als 20. und von lateral als 15. ausgezählten Omma verschiebt sich im Laufe der Entwicklung das Maximum zu immer niedrigeren Intensitäten. Für L I liegt es bei J_1 bzw. noch früher, für L II/III bei $J_{1/5}$ und für L IV/V bei $J_{1/10}$. Es handelt sich also um einen echten

Parallelfall zu dem bei unbuntem Adaptationslicht beobachteten Funktionswechsel.

Aber nur für L I bis L III ist der Stabzuwachs ausgesprochen intensitätsabhängig. Für L IV und L V jedoch ändern sich die relativen (auch die absoluten!) Vorschubwerte der Sehstäbe im hier mitgeteilten Intensitätsbereich sehr wenig. Im besonderen unterscheiden sie sich kaum zwischen J_1 und $J_{1/5}$. Ob das Rot in beiden Beleuchtungsstärken den Tieren auch subjektiv etwa gleichhell erscheint, bleibt zu prüfen.

Sehr beachtenswert ist aber, daß für L I die stärkste Retinomotorik bei J_1 und für L II/III bei $J_{1/5}$ beobachtet wurde und daß sie bei kleineren Beleuchtungsstärken wieder zurückging. *Die Ommen der jüngeren Larven sprechen auf ein helleres Rot retinomotorisch stärker an als auf ein dunkleres.* In optomotorischen Parallelversuchen (Resch 1954) reagierten die Rückenschwimmer bei einer vergleichbaren Intensität von Rot (Pigmentfarbe!) besser als bei 5facher Beleuchtungsstärke. Der Anteil der positiven Reaktionen (Mitschwimmen!) stieg von 38 auf 83% (!). Die Tiere schwammen ebensogut mit wie bei überhochschwelligem Licht. Lüdtke und Resch (1954) deuteten diese Erscheinung als ein spezifisches Purkinje-Phänomen der Insekten.

Da auch schon die Augen der jüngsten Rückenschwimmlarven ähnlich wie die der Imagines in ihren Teilen unterschiedliche Leistungen aufweisen, darf man von einem Ommenbezirk keinesfalls auf den anderen schließen. Das 40. vom dorsalen Augenrande her gezählte Omma liegt bei L I nahe dem ventralen Rande, bei L V jedoch in der mittleren Augenregion. Bei L I war der retinomotorische Effekt auf alle drei Rotintensitäten gleichstark; in den Ommen von L II bis L IV fand ich einen Höchstwert bei $J_{1/5}$, in denen von L V bei J_1. — Auch die Sehstäbe des 80. vom dorsalen Augenrande ab gezählten Ommas, das nur in den Augen der beiden ältesten Larvenstadien vorkommt, reagierten auf die gebotenen Reizlichter nicht gleichsinnig. Bei $J_{1/5}$ erreichten die Sehstäbe von L IV ihre größten, die von L V ihre kleinsten Vorschübe. Die Kurven solcher Meßwertreihen verlaufen dann ungefähr spiegelbildlich-symmetrisch.

Wieweit das unterschiedliche, zum Teil sogar gegensätzliche Verhalten des dorsalen und ventralen Augenbereiches mit einer angeborenen partiellen Farbenblindheit vorwiegend ventraler Augenteile zusammenhängt, ist histologisch nicht entscheidbar. — Nimmt man an, daß der subjektive Helligkeitswert des Adaptationslichtes desto größer ist, je weniger die Sehstäbe sich vorschieben, dann müßte der subjektive Helligkeitswert für Rot von Häutung zu Häutung größer werden. Über die spektrale Empfindlichkeit sagen die Werte aber nichts aus. Allenfalls gestatten sie, die Richtung der Empfindlichkeitsänderung einzuschätzen. So darf man vielleicht, auch wenn viele Faktoren noch unbestimmbar sind, aus dem An-

stieg relativer Vorschubwerte von Omma zu Omma bzw. ein und desselben Ommas von Häutung zu Häutung auf abnehmende Empfindlichkeit schließen.

Es gibt immer *ein* Rot (Rotfilter + Neutralglas), das bei den Larven aller Stadien in jeder Augenzone ebenso stark retinomotorisch wirksam ist wie ein Tageslicht von etwa 0,5 Lux Beleuchtungsstärke. Reduziert man beide Reizlichter auf $^1/_{10}$ ihrer Ausgangsintensität, dann löst Rot schwächere retinomotorische Vorgänge aus als Weiß. Die Stäbe schieben sich nur um einen solchen Betrag vor, der für ein weit helleres weißes Adaptationslicht kennzeichnend ist. Das kann also bedeuten, daß dieses dunklere Rot den Larven heller erscheinen muß als das gleichstark zurückgesetzte Weißlicht.

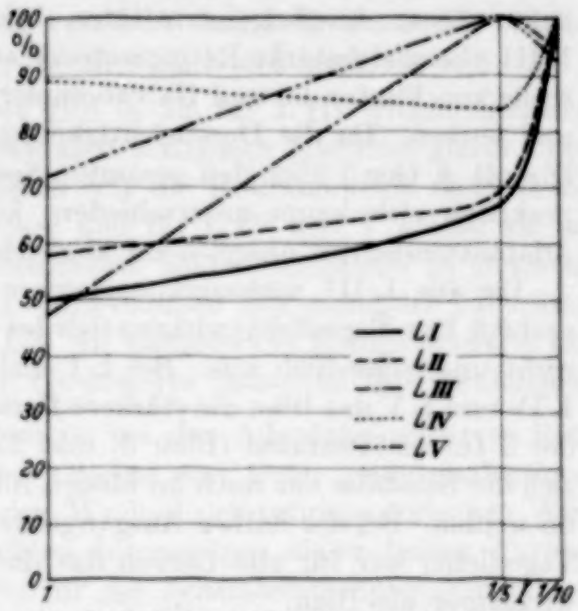

Abb. 9. Relative Stabverlängerungen (Ordinate) im 20. dorsalen Omma (Bezug: Höchstwert des Stabvorschubs je Stadium = 100 %) nach Adaptation an Blau fallender Intensität (Abszisse). Weitere Erklärungen im Text

b) Blau. Auch im blauen Reizlicht (J_1, $J_{1/5}$, $J_{1/10}$) nehmen die relativen Stabvorschübe im allgemeinen mit fortschreitender Embryonalentwicklung ab. Orte mit bemerkenswert hohen Vorschubwerten gibt es nur im dorsalen Augenbereich der jungen Larven. Von Häutung zu Häutung rücken diese Maxima etwas ventralwärts und heben sich fortlaufend weniger ab. Im 5. Larvenstadium sind die Vorschübe im ganzen Auge fast ausgeglichen. Die mögliche Deutung, daß den alternden Larven das gleiche Blau zunehmend „heller erscheint", widerspricht anscheinend den Ergebnissen von Ohnesorge (1955) am gleichen Objekt. In optomotorischen Versuchen verwechseln gerade die jüngsten Larven Blau mit helleren Graustufen als gegen Ende der Larvenzeit. Allerdings gebrauchte Ohnesorge Pigmentfarben, die weniger gesättigt sind als meine Spektrallichter.

Bei allen 5 Larvenstadien nimmt im dorso-lateralen Augenbereich die relative Länge der Stabvorschübe mit sinkender Intensität zu (Abb. 9). Ähnlich verhalten sich auch bei L I bis L III die ventralen und bei L IV die in Augenmitte gelegenen Ommen. Bei L V jedoch nimmt in Augenmitte die retinomotorische Wirkung von J_1—$J_{1/10}$ kontinuierlich ab; vielleicht sind diese Sehelemente für Blau bei $J_{1/10}$ empfindlicher als bei J_1.

Auch in der ventralen Augenregion von L IV und L V, für die es bei L I bis L III noch keine vergleichbare Zone gibt, wird die Retinomotorik mit sinkender Intensität des blauen Adaptationslichtes schwächer.

Vollständig vergleichen läßt sich die Retinomotorik der an Blau- und an Tageslicht adaptierten Larven deshalb nicht, weil ich nur für L III bei beiden Adaptationslichtern je eine Intensitätsstufe fand, die untereinander wirksamkeitsgleich sind: Blau $J_{1/5}$ und 0,5 Lux Tageslicht. Diese Ausgangsintensitäten beider Adaptationslicher, die bei L III also gleichstarke Retinomotorik auslösten, ließen sich unter Kontrolle von Photozelle und Galvanometer um den gleichen Faktor heben und senken. Da die Durchsichtigkeitsgrade δ_{mm} meiner Neutralgläser (Schott & Gen.) über den gesamten Spektralbereich sichtbaren Lichtes praktisch sich kaum unterschieden, konnte ich auch mit ihnen die Adaptationslichter ausreichend abgleichen.

Die für L III wirksamkeitsgleichen Adaptationslichter (Blau $J_{1/5}$ und 0,5 Lux Tageslicht) wirkten sich bei den Larven der übrigen Stadien recht unterschiedlich aus. Bei L I und L II löste das Tageslicht, bei L IV und L V das Blau die stärkere Retinomotorik aus. In der höchsten der 3 Intensitätsstufen (Blau J_1 und 2,5 Lux Tageslicht) verlängerten sich die Sehstäbe nur noch im blauen Adaptationslicht, aber nicht mehr im weißen. Bei der halben Ausgangsintensität (Blau $J_{1/10}$ und 0,25 Lux Tageslicht) war für alle Larven das dunkle Tageslicht retinomotorisch wirksamer als Blau.

c) Gelb. Auch nach der Adaptation an intensitätsschwaches gelbes Licht lassen die Sehstäbe der Larven aller Altersstufen retinomotorische Vorgänge erkennen. Die Maxima der Vorschübe liegen in der dorsolateralen Augenhälfte und zwar an den gleichen Orten wie für Blau.

Da es für das Gelb ebenso wie für die Farben Rot und Blau unmöglich ist, die Empfindlichkeitsänderung in ausreichend kleinen Augenzonen zu verfolgen, wählte ich wie vordem das 20. bzw. 40. vom dorsalen Augenrande ab gezählte Omma als Vertreter des dorsalen bzw. ventralen Augenteiles des Stadiums L I. Beim 1. Larvenstadium erhielt ich in beiden Breiten (20. und 40. Omma) bei allen 3 Gelbintensitäten annähernd gleich starke retinomotorische Vorgänge. L II beginnt bei J_1 mit geringen und endet schon bei $J_{1/5}$ mit maximalen Stabvorschüben, die über $J_{1/10}$ hinaus unverändert bleiben. In diesem Intensitätsbereich sind die Augen der Larven I und II für Gelblicht weit weniger unterschiedsempfindlich als für andere Farben. — Die relativen Stabverlängerungen von L III sind für J_1 und $J_{1/5}$ ähnlich denen von L II, bei noch kleineren Intensitäten gehen sie jedoch wieder zurück, so daß man erneute Zunahme des subjektiven Helligkeitswertes vermuten darf. Nach der Häutung zu L IV kehren sich die Verhältnisse geradezu um.

Bei beiden ältesten Larvenstadien sind die Sehstäbe bei J_1 und $J_{1/10}$ länger als bei $J_{1/5}$, bei L V noch deutlicher als bei L IV. Die Intensität, auf welche die jüngeren Larven mit größtmöglichem Stabvorschub reagieren, löst bei älteren Larven kleinere Stabverlängerungen aus. Offenbar liegt hier also ebenso wie für Rot und Blau ein Funktionswechsel vor, der sehr wahrscheinlich mit einem Wechsel der subjektiven Helligkeitswerte verknüpft ist. Gleiches gilt auch für laterale Ommen (15. Omma vom hinteren Augenrand).

In der ventralen Augenspitze von L IV und L V nimmt der retinomotorische Effekt von Gelb-J_1 bis zu $J_{1/10}$ kontinuierlich ab.

Zum Tageslicht von 0,5 Lux gibt es ein für L III wirksamgleiches Gelb, d. h. die Sehstabvorschübe sind statistisch gesichert gleich. Bei unveränderten Adaptationslichtern war die Retinomotorik nach Gelbadaptation für L I und II kleiner und für L IV und V größer als im Tageslicht. Änderte ich die Intensitäten beider Reizlichter in gleichem Maße (Galvanometerausschlag), dann nahmen mit sinkender Intensität (J_1, $J_{1/5}$—$J_{1/10}$) bei L IV und L V die subjektiven Helligkeitswerte für Gelb zu und für Weiß ab; die Grenzwerte tauschten ihre Stellungen.

d) Orange und Grün. Anders als bei den Adaptationslichtern Rot, Blau und Gelb fanden sich bei Orange und Grün keine eindeutigen Kriterien für die Stärke und den Wechsel der retinomotorischen Wirkung. Bei allen drei untersuchten Intensitäten dieser beiden Farben gelang es mir nicht, die Werte für die Sehstabvorschübe sinnvoll zu ordnen. In nahe dem hinteren Augenrande gelegenen Ommatidien stimmten die Vorschübe der Sehstäbe einmal mit denen in orange- und rotadaptierten Augen und zum anderen mit denen in grün- und blauadaptierten Augen größenordnungsmäßig überein. Das sagt aber nicht mehr aus, als daß diese Farbpaare für die Augen der Rückenschwimmerlarven denselben, zumindest einen ähnlichen subjektiven Helligkeitswert haben.

Die Zuwachswerte der Sehstäbe in den Augen von L V sind einheitlicher als die aller übrigen Stadien. Bei beiden Farben sind im gesamten Augenbereich jeweils die retinomotorischen Effekte ungefähr gleichgroß. Mit sinkender Intensität wachsen sie bei Orange- wie bei Grün-Adaptation.

Das gleiche Ergebnis erhielt ich nun auch bei solchen Larven aller Stadien, deren Augen nicht an reine Spektrallichter, sondern an farbige Mischlichter adaptiert waren. Ich kombinierte Rot bzw. Blau mit Gelb (T_{max} s. S. 283) derart, daß das orangefarbene und grüne Mischlicht für das menschliche Auge den reinen Spektrallichtern weitestgehend ähnlich waren. Ebenso wie bei diesen reagierten die Sehstäbe aller Larvenaugen auch bei den Mischfarben recht unspezifisch. Sicher war nur, daß der zentrale Sehstab unabhängig von Farbqualität und Intensität immer am weitesten vorwanderte.

Zum Purkinje-Phänomen

Allgemein spricht man vom Purkinje-Phänomen, wenn sich beim Übergang vom „Tages-" zum „Dämmerungssehen" die relativen Helligkeitswerte der Farben ändern, und macht gern zwei verschiedene Rezeptorensysteme dafür verantwortlich. Bis zu Lüdtkes Mitteilung über das „Purkinje-Phänomen beim Rückenschwimmer" hatte meines Wissens nur O. Koehler (1924) bei *Daphnia magna* und damit erstmalig bei Wirbellosen ähnliche Verschiebungen der relativen Helligkeitswerte beobachtet, wie sie beim Menschen und vielen Wirbeltieren längst bekannt waren.

Wie schon (Abb. 6) besprochen, konnte man aus dem kennzeichnend unstetigen Vorschub der Sehstäbe bei sinkenden Tageslichtintensitäten auf mindestens zwei verschiedene Rezeptorensysteme im Ommatidium des Rückenschwimmerauges schließen. Dann sollten sich nach Adaptation in farbigem Licht bei den Larven ebenso oder ähnlich wie bei den Imagines (Lüdtke 1953) die relativen Helligkeitswerte ändern. Damit ließe sich für die Rückenschwimmerlarven zwar nicht das Farbensehen, aber eine für Insekten spezifische Purkinje-Verschiebung der Helligkeitswerte nachweisen. Zugleich erhöbe sich dann die Frage, ob so etwas bereits zu Beginn der Larvenzeit oder erst später nachweisbar sei.

Um diese Frage zu entscheiden, darf man die Reaktionen der Sehstäbe auf die verschiedenen Farben und ihre Intensitäten nur für jeweils ein und dasselbe Larvenstadium geschlossen betrachten. Ein Vergleich der Larvenstadien miteinander ist sehr schwer, weil bei jedem Übergang vom einen zum anderen Larvenstadium 1. Umfang und Ommenzahl des Auges zunehmen, 2. deswegen jedes bereits vorhandene Einzelomma seine Lage im Gesamtauge ändert und 3. ein Großteil der Ommen im oben beschriebenen Sinne seine Funktion wechselt.

So wählte ich als Vertreter des dorsalen Augenteiles das 20. und für den ventralen das 40. vom dorsalen Augenrand an gezählte Omma und prüfte sie wieder mit Rot, Blau und Gelb. Die Intensitätsbereiche waren so gewählt, daß die retinomotorischen Vorgänge in den Augen des 3. Larvenstadiums für alle Farben annähernd gleich ausfielen (Abb. 10, III, a, b). Daß es beim 3. Larvenstadium einen Intensitätsbereich gibt, in dem sich mit Abschwächen des Reizlichtes die subjektiven Helligkeitswerte für alle drei gebotenen Farben gleichsinnig ändern, ist also die Ausgangssituation der folgenden Untersuchungen an allen 5 Stadien. In der Abb. 10, I—V, ist ein Teil der Ergebnisse graphisch wiedergegeben.

Nach Adaptation von L I an Gelb verlängern sich die Sehstäbe des 20. wie auch des 40. Ommas im gesamten Intensitätsbereich (J_1—$J_{1/10}$) fast immer gleichstark (Abb. 10, Ia und b). „Rot" hat beidemal bei J_1 seinen Höchstwert; bis zu Rot-$J_{1/10}$ sinkt er auf 75 bzw. 85% ab. Für

„Blau" jedoch steigen die Zuwachswerte mit fallender Intensität an, so daß im Kurvenbild (Abb. 10, I, a, b) die Linienzüge für Rot und Blau sich nahe $J_{1/5}$ überschneiden. Es ist zu erwarten, daß auch die subjektiven Helligkeitswerte dieser Farben ihre Plätze getauscht haben. Weitere, hier nicht mitgeteilte Messungen an anderen Ommen bestätigen diesen Befund.

Bereits bei L II (Abb. 10 II) erhielt ich für den dorsalen (a) und den ventralen (b) Augenbereich kennzeichnend verschiedene Ergebnisse. In beiden waren die Höchstwerte für Rot und Gelb von J_1 nach $J_{1/5}$ versetzt. Für Blau blieben die Meßwerte dorsal (a) unverändert, ventral (b) rückte das Maximum aber zu höheren Intensitäten ($J_{1/10} \rightarrow J_{1/5}$) auf. Die bei J_1 (a) angedeutete Kurvenkreuzung für Rot und Gelb einerseits und Blau andererseits ist statistisch nicht gesichert. Die relativen Vorschubwerte der Sehstäbe für Gelb stimmen mit denen für Rot weitgehend überein; sie behalten von $J_{1/5}$—$J_{1/10}$ aber konstant ihre Höchstwerte wie bei L I, während sie für Rot in beiden Augenteilen wieder abnehmen. Über die statistische Sicherung hinaus bestätigen Messungen an Augenquerschnitten die Signifikanz dieses Befundes. Im ventralen Augenteil (b) nimmt der retinomotorische Effekt für alle 3 Farben also zunächst zu, bleibt dann für Gelb und Blau konstant und fällt wie dorsal (a) nur für rotes Reizlicht wieder ab.

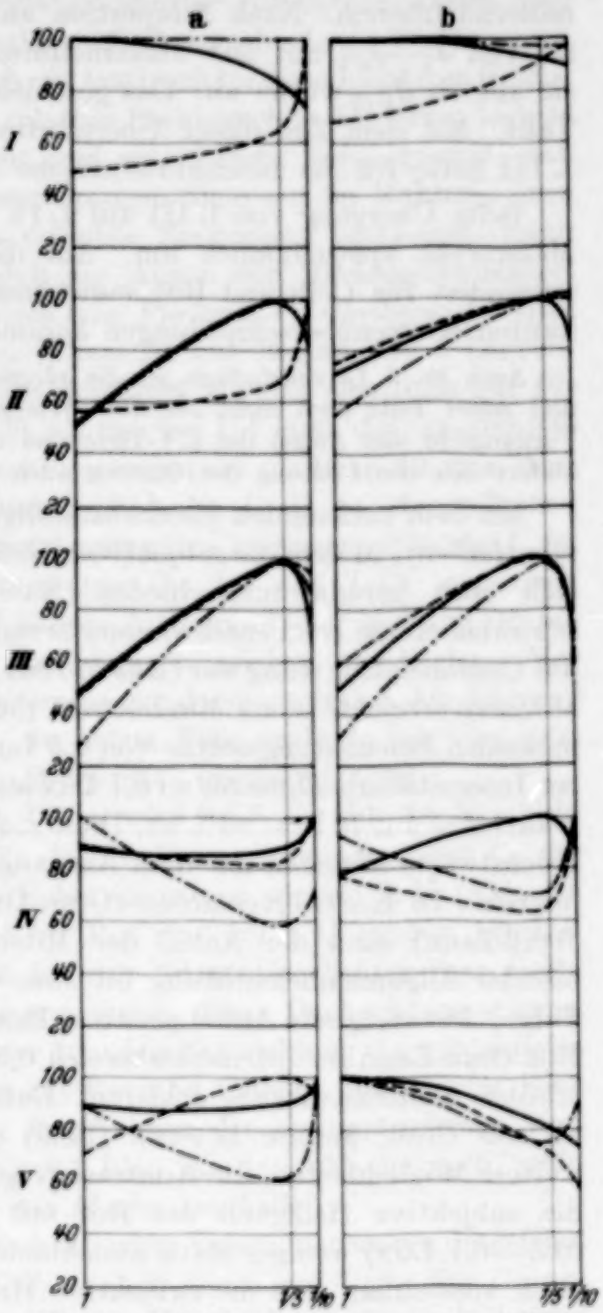

Abb. 10. Relative Stabverlängerungen (Ordinaten) (Bezug: Höchstwert des Stabvorschubs je Stadium = 100 %) nach Adaptation an Rot (———), Blau (– – –) und Gelb (—·—·—) fallender Intensitäten (Abszissen) für das 20. (a) und für das 40. (b) von dorsal gezählte Omma bei allen 5 (I—V) Larvenstadien. $n \geq 30$ je Meßpunkt

Mit den relativen Vorschubwerten für die ventrale Augenhälfte von L II stimmen die für das ganze Auge von L III (Abb. 10, III, a, b) annähernd überein. Nach Adaptation an Rot, Blau und Gelb wachsen sie von J_1—$J_{1/5}$ mit fast übereinstimmender Steigung; dann nehmen sie alle bis $J_{1/10}$ wieder ab. Das geschieht für alle 3 Farben im gleichen Takt. Mit dem Ziel dieser Übereinstimmung im gesamten Auge von L III hatte ich die Intensitätsbereiche der Farben gewählt (s. S. 283).

Beim Übergang von L III auf L IV (Abb. 10) kehren sich fast alle Meßkurven spiegelbildlich um. Auf diese auffallende, auch bei L V zumindest für Gelb und Rot weiterbestehende Umkehr mit den markanten Kurvenüberschneidungen komme ich weiter unten noch zurück.

Auch im 5. Larvenstadium ist die physiologische Entwicklung des Ommas und seiner Teile noch nicht beendet. Wie ein Vergleich der retinomotorischen Vorgänge in den Augen der L V-Tiere und der Imagines (Lüdtke 1953) lehrt, ändert sich die Leistung der Ommen auch noch während der Metamorphose.

Mit dem rotierenden gleichabständigen Rot-Grau-Streifenzaun (Pigmentfarben), in dem die subjektiven Helligkeitswerte von Rot und Grau sich eben gerade unterschieden (Nachbarzaun des „Gleichzauns"), schwammen die Rückenschwimmerlarven um so seltener mit, je geringer die Gesamtbeleuchtung war (Resch 1954). Der Prozentsatz positiver Reaktionen erreichte einen Mindestwert (30%) bei einer auf dem Zaun gemessenen Beleuchtungsstärke von 0,5 Lux (Tageslicht!). Bei noch weiterer Intensitätsabnahme bis zu 0,1 Lux stieg der Anteil der Mitschwimmreaktionen auf 70 bzw. 83% an. Diese statistisch einwandfrei gesicherten Höchstwerte stimmen mit dem Ausgangswert bei 25 Lux (Tagessehen) überein. In Kontrollversuchen (Grau-Grau-Streifenzaun und Schwarz-Weiß-Zaun) sank der Anteil der Mitschwimmreaktionen mit abnehmender Allgemeinbeleuchtung bis zum völligen Ausbleiben in stetiger Folge. Der steigende Anteil positiver Reaktionen auf den sich drehenden Rot-Grau-Zaun im Intensitätsbereich 0,5→0,1 Lux ließ sich nur durch erhöhte Kontrastwirkung erklären. Daß das Rot schneller „dunkelte" als das Grau, konnte Lüdtke (1953) ausschließen. Es bleiben zwei weitere Möglichkeiten, die Kontraststeigerung zu deuten. Einmal kann die subjektive Helligkeit des Rot mit sinkender Beleuchtungsstärke (0,5→0,1 Lux) weniger stark abnehmen als die des Grau. Es ist aber auch vorstellbar, daß die subjektive Helligkeit sogar zunimmt; dieser Fall würde eintreten, wenn die Intensitätsabnahme durch die mit dem Adaptationsvorgang verknüpfte Empfindlichkeitssteigerung spezifisch überkompensiert würde.

Es ist mit großer Sicherheit anzunehmen, daß Resch und ich in übereinstimmenden Intensitätsbereichen arbeiteten. Unsere mit demselben Lichtmeßgerät ermittelten Werte für unsere Tageslichtkontrollen decken sich weitgehend.

So wie man die erneute Zunahme der optomotorischen Reaktionen der Imagines in diesem zwischenschwelligen Intensitätsbereich auf eine Änderung des spektralen Helligkeitsverhältnisses zurückführen kann, darf man auch annehmen, daß die farbspezifisch verschiedenen Verlängerungen der Sehstäbe (Abb. 10) zugleich ein Ausdruck für die subjektiven Helligkeitswerte sind. Je größer der relative Stabvorschub ist, desto kleiner ist der subjektive Helligkeitswert und umgekehrt. Vorausgesetzt, daß die elektrophysiologischen Untersuchungen diese nur im Rahmen eines einzigen Entwicklungsstadiums erlaubte Zuordnung bestätigen, kann man *zusammenfassend* sagen, daß die Augen der Rückenschwimmerlarven ebenso wie die der Imagines eine *Purkinje-Verschiebung* der subjektiven Helligkeitswerte zeigen. Diese ist mit Beginn des 1. Larvenstadiums bereits vorhanden. Mit Sicherheit gilt das allerdings nur für „das 20. Omma" (Abb. 10, I—V, a), das bei L I etwa die Augenmitte und bei L V die dorsale Augenzone repräsentiert. — Beim 40. vom dorsalen Augenrande gezählten Omma (Abb. 10, I—V, b), das während der Larvenzeit von der ventralen Augenspitze in Augenmitte rückt, ist eine solche Purkinje-Verschiebung nur für L I und L IV statistisch gesichert. — Für das 15. vom hinteren Augenrande her gezählte Omma konnte ich keine eindeutigen Beziehungen solcher Art finden. Vor allem war es aber schwer, dieses Omma zur dorso-ventralen Ausdehnung des Auges richtig einzuordnen. In jedem Falle verfügte ich über ausreichende Meßdaten ($n = 30$ je Meßpunkt; insgesamt 4050).

Über L IV hinweg (Abb. 10, IV, a) wird bei L V (Abb. 10, V, a) ein Zustand erreicht, nach dem für das 20. Omma zumindest bei $J_{1/5}$ die Meßdaten sich in umgekehrter Folge einordnen wie bei L II (Abb. 10, I, a). Die relativen Vorschübe für Rot sind bei L II größer, bei L V kleiner als die für Blau. Auch für das Adaptationslichter-Paar Gelb-Blau gilt diese Umkehr im gleichen Sinne. Diese Beobachtung stimmt mit der überein, daß während der larvalen Entwicklung die subjektiven Helligkeitswerte im allgemeinen für Rot und Gelb zu- und die für Blau abnehmen (S. 294). Nach den Ergebnissen der optomotorischen Versuche (Ohnesorge 1954) „dunkelt" Blau um das 0,5fache nach, während Rot sich gleichzeitig um das 4fache „aufhellt".

Abgesehen von den nicht entscheidenden Ausnahmen waren die retinomotorischen Reaktionen auf *Gelb* ähnlich denen auf Rot. Für *Orange* und *Grün* fand ich keine spezifische Verschiebung der subjektiven Helligkeitswerte.

Bei L II und bei L V (Abb. 10, II, a und V, a) überschneiden sich die Meßkurven für Blau und Rot fast übereinstimmend jeweils zweimal. Die eine Kreuzungsstelle nahe $J_{1/5}$ ist für L II, wie auch für L V statistisch gesichert ($t < 3$; $P > 0{,}0027$); die zweite liegt bei L II nahe J_1, bei L V zwischen J_1 und $J_{1/5}$. Nur die für L V konnte ich ausreichend

statistisch sichern. Zumindest gilt also für den dorsalen Augenteil dieses Stadiums, daß im verfügbaren Intensitätsbereich die beiden Adaptationslichter Rot und Blau sich zweimal darin abwechseln, den größeren retinomotorischen Effekt auszulösen.

Lüdtke (1935) hatte für die Einstellbewegung der Imagines zum Licht (weißes Mischlicht!) zwei Schwellenwerte nachweisen können, die „im Verlaufe von Adaptationsvorgängen verschieblich" sind. Ob und wie diese mit den methodisch ganz anders nachweisbaren Schwellenwerten für die Retinomotorik tatsächlich zusammenhängen, das müssen weitere Untersuchungen klären.

Zusammenfassung

1. Die Einsatzschwelle (Hochschwelle) für die Retinomotorik (im Sinne Lüdtkes, 1953) beim Rückenschwimmer liegt für L I bis L III bei 2,0 Lux, für L IV und L V bei 1,75 Lux.

2. In den Ommen aller Larvenstadien verlängern sich die 7 Sehstäbe nach Adaptation an zwischenschwelliges Licht meist zunehmend mit sinkender Beleuchtungsstärke.

3. Der relative Stabzuwachs nimmt von Häutung zu Häutung ab. Die Sehzellen des 1. Stadiums passen sich also retinomotorisch stärker an die jeweiligen Lichtverhältnisse an als die des 5. — Der absolute Sehstabzuwachs ändert sich während der postembryonalen Entwicklung kaum.

4. Im an niedere Intensitäten und an Dunkelheit adaptierten Auge ist altersabhängig eine mehr oder weniger gute Zweiteilung zu erkennen. Die Sehstäbe der dorsalen Augenregion verlängern sich stärker als die der ventralen. Diese Zweiteilung verliert mit zunehmendem Alter der Larven an Schärfe.

5. Besondere Kennzeichen beim Stabvorschub in den Augen der Larvenstadien L I und L II lassen auf zwei zeitlich nacheinander wirksame Adaptationsmechanismen schließen.

6. In den Rhabdomeren sind nach Adaptation an verschiedene Intensitäten nicht einzuordnende Struktur- und Farbunterschiede zu erkennen.

7. Verschiebung der subjektiven Helligkeitswerte während der postembryonalen Entwicklung läßt auf einen Funktionswechsel eines jeden Ommatidiums schließen. Vermutlich nimmt zugleich die allgemeine Lichtempfindlichkeit der Augen zu.

8. Die Zone der Sehzellenkerne verlagert sich beim Übergang vom Hell- zum Dunkelsehen ein wenig zum distalen Ende der Sehzellen.

9. Nach Adaptation an rote, blaue und gelbe Spektrallichter zwischenschwelliger Intensitäten schieben sich die Sehstäbe in den Ommen aller

5 Larvenstadien (L I bis L V) farbspezifisch verschieden weit zwischen den Kristallkegelzellen vor. — Nach Adaptation an zwischenschwellige grüne oder orangefarbene Lichter ist kein ähnlicher Effekt zu erkennen.

10. Die Orte der maximalen relativen Stabverlängerungen liegen für alle Farben in der dorsalen Augenregion nahe beieinander oder decken sich. Mit dem Wachstum des Gesamtauges bleibt sein funktioneller Gesamtplan weitgehend erhalten; die Orte maximaler Stabverlängerungen verlagern sich mit fortschreitender Postembryonalentwicklung in ventraler Richtung.

11. Die relativen Helligkeitswerte der Farben ändern sich von Häutung zu Häutung in gut definierbarer Folge. Rot „hellt auf" und Blau wird „dunkler".

12. In der farbentüchtigen dorso-lateralen Augenregion ist bei allen 5 Larvenstadien ein „Insekten-Purkinje-Phänomen" nachweisbar.

Literatur

Ast, F.: Über den feineren Bau der Facettenaugen bei Neuropteren. Zool. Jb., Abt. Anat. u. Ontog. **41** (1919).

Bedau, K.: Das Facettenauge der Wasserwanzen. Z. Zool. **97**, 417 (1911).

Brehm, A. E.: Tierleben: Die Insekten. Leipzig 1884.

Buddenbrock, W. v., u. I. Moller-Racke: Neue Beobachtungen über den Farbensinn der Insekten. Experientia (Basel) **8**, 62 (1952).

Exner, S.: Die Physiologie der facettierten Augen von Krebsen und Insekten. Leipzig u. Wien 1891.

Frisch, K. v.: Studien über die Pigmentverschiebung im Fecettenauge. Biol. Zbl. **28**, 662, 698 (1908).

Grenacher, H.: Untersuchungen über das Sehorgan der Arthropoden insbesondere der Spinnen, Insekten und Crustaceen. Göttingen 1879.

Hanström, B.: Über die Frage, ob funktionell verschiedene zapfen- und stäbchenartige Sehzellen im Komplexauge der Arthropoden vorkommen. Z. vergl. Physiol. **6**, 566 (1927).

Koehler, O.: Über das Farbensehen von *Daphnia magna* Straus. Z. vergl. Physiol. **1**, 84 (1924).

Kuhn, O.: Die Facettenaugen der Landwanzen und Zikaden. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **5** (1926).

Lüdtke, H.: Die Funktion waagerecht liegender Augenteile des Rückenschwimmers und ihr ganzheitliches Verhalten nach Teillackierung. Z. vergl. Physiol. **22**, 67 (1935).

Lüdtke, H.: Die Bedeutung waagerecht liegender Augenteile für die photomenotaktische Orientierung des Rückenschwimmers. Z. vergl. Physiol. **26**, 162 (1938).

Lüdtke, H.: Die embryonale und postembryonale Entwicklung des Auges bei *Notonecta glauca*. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **37**, 1 (1940).

Lüdtke, H.: Sinnesphysiologie und Entwicklungsgeschichte am Auge des Rückenschwimmers *Notonecta glauca*. Biol. Zbl. **62**, 220 (1942).

Lüdtke, H.: Retinomotorik und Adaptationsvorgänge im Auge des Rückenschwimmers. Z. vergl. Physiol. **35**, 129 (1953).

Lüdtke, H.: Dunkeladaptation und Verschiebung der Helligkeitswerte im Auge von *Notonecta glauca*. Z. Naturforsch. **9**b, 2 (1954).

Müller, H.: Die Dunkeladaptation beim Guppy *(Lebistes reticulatus)*. Z. vergl. Physiol. **37**, 1 (1954).
Ohnesorge, E.: Untersuchungen über die Entwicklung des Sehvermögens von *Notonecta glauca*. Z. vergl. Physiol. **37**, 424 (1955).
Raabe, W.: Beiträge zum Orientierungsproblem der Wasserwanzen. Z. vergl. Physiol. **35**, 309 (1953).
Resch, B.: Untersuchungen über das Farbensehen an *Notonecta glauca*. Z. vergl. Physiol. **36**, 27 (1954).
Rokohl, R.: Über die regionale Verschiedenheit der Farbentüchtigkeit im zusammengesetzten Auge von *Notonecta glauca*. Z. vergl. Physiol. **29**, 638 (1942).
Schlegtendal, A.: Beitrag zum Farbensinn der Arthropoden. Z. vergl. Physiol. **20**, 545 (1934).
Trincker, D.: Zur Ontogenese der Zapfen- und Stäbchenfunktion beim Menschen. Naturwissenschaften **41**, 310 (1954).
Weber, H.: Lehrbuch der Entomologie. Jena 1933.
Weber, H.: Grundriß der Insektenkunde, 3. Aufl. Stuttgart 1954.

Dr. Anneliese Reis, Ludwigshafen a. Rh. Franckhstr. 37.

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 43, 305—335 (1960)

Aus den Zoologischen Instituten der Universitäten Würzburg und München
(Vorstand: Prof. Dr. H. Autrum)

ÜBER DIE KÖRPERTEMPERATUREN UND DEN WÄRMEHAUSHALT VON *APIS MELLIFICA** ** ***

Von

Harald Esch

Mit 19 Textabbildungen

(Eingegangen am 7. März 1960)

Inhalt

Seite

A. Einleitung 305
B. Untersuchungsmethodik 307
a) Die Meßvorrichtung S. 307. — b) Die „Verletzungswärme S. 308.
C. Ergebnisse 308
1. Körpertemperaturen bei der Sammeltätigkeit 308
a) Am Futterplatz S. 309. — b) Im Stock S. 312. — c) Die „Nachläuferinnen" S. 314.
2. Körpertemperaturen einzelner Bienen während des Aufenthaltes im Stock 316
a) „Unbeschäftigte" Tiere S. 317. — b) Bei der Konstanthaltung der Brutnesttemperatur S. 318. — c) In der Wintertraube S. 319.
3. Körpertemperaturen einzelner Bienen außerhalb des Stockes 322
a) Im Thermostat S. 322. — b) Flugvorbereitung und Modellflug S. 322. — c) Wärmeaustausch mit der Umgebung S. 324.
4. Lokalisierung und Identifizierung der Heizquelle 325
D. Diskussion 325
1. Körpertemperatur und Stoffwechsel 325
2. Auftreten von Regulationsvorgängen beim Einzeltier 328
a) Sammeltätigkeit S. 328. — b) Brutnestbeheizung S. 330. — c) In der Wintertraube S. 331.
3. Typ des Wärmehaushaltes der Einzelbiene 332
Zusammenfassung 333
Literatur 334

A. Einleitung

Seit Anfang des letzten Jahrhunderts befaßten sich zahlreiche Untersuchungen mit der Körpertemperatur von Insekten. Die meisten Tiere zeigen eindeutig ein poikilothermes Verhalten (Hausmann 1803, Bachmetjew 1899, Precht 1955).

* Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Würzburg.

** Herrn Prof. Autrum danke ich für sein Entgegenkommen, durch das er diese Untersuchungen ermöglicht hat.

*** Die Arbeit wurde mit Mitteln durchgeführt, die die Deutsche Forschungsgemeinschaft Herrn Prof. Autrum zur Verfügung stellte.

Anhäufungen von Einzeltieren gelingt es, über längere Zeitabschnitte Temperaturdifferenzen zwischen ihrem Körper und der Umgebung aufrechtzuerhalten. Sozial lebende Insekten sind sogar in der Lage „Nesttemperaturen", die erheblich von der Außentemperatur abweichen, unabhängig von der Außentemperatur ihren Bedürfnissen entsprechend zu regeln.

Eine sehr vollkommene Entwicklung des sozialen Wärmehaushaltes findet man bei der Honigbiene: Im Sommer hält sich die Temperatur des Brutnestes konstant zwischen 35° und 36° (GATES 1914; PHILLIPPS und DEMUTH 1914; HESS 1926; HIMMER 1927, 1931, 1933; MATHIS 1952; LINDAUER 1951, 1952, 1954; WOHLGEMUTH 1957). In der Wintertraube wurden bei Außentemperaturen bis zu —20° im Luftraum zwischen den einzelnen Tieren Temperaturen im Bereich von 10—36° gemessen (ARMBRUSTER 1922, HIMMER 1925, HESS 1926).

Bei den Untersuchungen des Tanzverhaltens der Sammelbienen gewinnt die Frage nach dem Zusammenhang zwischen Körper- und Umgebungstemperatur der Einzelbiene große Bedeutung. In der Analyse der Wahrnehmungsgrundlagen der Entfernungsmitteilung (HERAN 1956) stößt man auf eine Abhängigkeit der Tanzfrequenz von der Außentemperatur. Bei dem vermutlich poikilothermen Verhalten der Sammelbiene besteht also eine Beziehung zwischen Tanzfrequenz und Körpertemperatur.

Aus den bisher vorliegenden Arbeiten kann man die Frage nach dem Zusammenhang zwischen Körper- und Umgebungstemperatur der Einzelbiene nicht befriedigend beantworten.

Mit dem Wärmehaushalt von Einzelbienen befaßte sich HIMMER (1925). Er versuchte den zahlreichen Vermutungen entgegenzutreten, daß die Biene ein rein homoiothermes Verhalten zeige (CIESIELSKY, BRÜNNICH 1922). HIMMER fand im Körper von Einzeltieren eine oft erhebliche Temperaturdifferenz gegen die Umgebung. Es gelang ihm aber nachzuweisen, daß ruhende Tiere die Umgebungstemperatur annehmen können. Genauere Angaben über die Wärmeleistung des Einzeltieres konnte er nicht machen. Es fehlten exakte Bestimmungen des Stoffwechsels und seine Thermoelemente wiesen eine zu große Wärmeableitung auf.

SOTAVALTA (1954) beobachtete die Thoraxtemperatur von Bienen während des Fluges und berechnete aus dem Sauerstoffverbrauch die zum Flug gehörenden Energieumsätze. Da es sich bei seinen Versuchen um Modelluntersuchungen handelte, in denen die Tiere aus dem sozialen Verband gerissen waren, ließen sich seine Ergebnisse nicht ohne weiteres auf Einzeltiere unter normalen Verhältnissen übertragen (HERAN 1956).

In der vorliegenden Arbeit wird versucht, den Wärmehaushalt des Einzeltieres im sozialen Verband zu studieren. Dabei wird der Sammeltätigkeit und dem damit verbundenen Tanzverhalten besondere Beachtung geschenkt.

B. Untersuchungsmethodik

a) Die Meßvorrichtung. Die Messungen wurden mit einem Thermoelement kleiner Wärmekapazität und geringer Wärmeableitung ausgeführt. Es konnte nach Durchstechen des Chitinpanzers in den Körper des Versuchstieres gesteckt oder mit Wachs-Kolophonium von außen auf den Chitinpanzer festgeklebt werden (Erläuterungen zu der damit erreichbaren Meßgenauigkeit werden in Abschnitt b gegeben). Die Meßspitze bestand aus der 1 mm langen Lötstelle eines 0,05 mm starken Konstantandrahtes gegen einen 0,01 mm dicken Kupferdraht. Das Zusammenlöten der Drähte erfolgte unter dem Binokular. Die Lötstelle wurde mit einem scharfen Messerchen glatt gekratzt. Die Zuleitungen verliefen von der Lötstelle durch eine mit Asbestwolle gefüllte Glaskapillare. Diese wurde mit einem Holzgriff gehalten. An die etwa 5 cm lange Glaskapillare schloß ein dünner Isolierschlauch an, durch den die Drähte zum Dewar-Gefäß und Anzeigegerät geführt wurden. Das Dewar-Gefäß, in dem sich die Gegenlötstelle befand, war mit Wasser von Zimmertemperatur gefüllt. Als Anzeigegerät diente ein Multiflexgalvanometer, das in Verbindung mit einem Nachlaufschreiber Registrierungen über längere Zeitabschnitte ermöglichte.

Die Wärmekapazität der Meßspitze betrug etwa $2{,}68 \cdot 10^{-6}$ cal·grd^{-1}. Über die Zuleitungsdrähte wird pro Zeit t eine Wärmemenge Q_g von der Meßspitze abgeführt, die man für jeden Draht nach

$$\cdot\, Q = F \cdot l \cdot \left| \frac{dT}{ds} \right| \cdot t$$

berechnen kann.

Dabei ist F die Querschnittfläche und l die Wärmeleitzahl des Drahtes. dT/ds stellt das Temperaturgefälle über den Draht von der Meßspitze bis zu einem Punkt mit der Umgebungstemperatur dar. Die Wärmeabgabe der Drähte an die Umgebung wird in der Nähe der Meßspitze durch die 5 cm lange Wärmeisolierung im wesentlichen verhindert.

Für den Kupferdraht beträgt $F = 0{,}78 \cdot 10^{-6}$ cm^2, $l = 0{,}89$ cal·cm^{-1}·sec^{-1}·grd^{-1}, $dT/ds = 0{,}2$ grd·cm^{-1} pro Grad Temperaturdifferenz zwischen Meßspitze und Umgebung. Damit ist

$$Q_{Cu} = 1{,}4 \cdot 10^{-7} \text{ cal} \cdot \text{grd}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1}.$$

Beim Konstantandraht ist $F = 19{,}6 \cdot 10^{-6}$ cm^2, $l = 0{,}054$ cal·cm^{-1}·sec^{-1}·grd^{-1}, $dT/ds = 0{,}2$ grd·cm^{-1} pro Grad Temperaturdifferenz zwischen Meßspitze und Umgebung. Es wird

$$Q_{Ks} = 2{,}1 \cdot 10^{-7} \text{ cal} \cdot \text{grd}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1}.$$

Die gesamte von der Meßspitze abgeleitete Wärmemenge Q_g beträgt bei den oben angegebenen Bedingungen

$$Q_g = 3{,}5 \cdot 10^{-7} \text{ cal} \cdot \text{grd}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1}.$$

Bei einer Temperaturdifferenz von 10° gibt der Thorax einer Biene etwa 0,3 cal·min^{-1}, d. h. $0{,}5 \cdot 10^{-2}$ cal·sec^{-1} an die Umgebung ab (s. C, c, 3, Abb. 17). Die über das Thermoelement abgeführte Wärmemenge beträgt also den $1{,}4 \cdot 10^4$ten Teil der insgesamt abgegebenen Wärmemenge. Die durch die elektrischen Vorgänge der Messung entnommene Wärmemenge kann man vernachlässigen. Sie liegt in der Größenordnung von $1 \cdot 10^{-9}$ cal·sec^{-1}. Für die Meßvorgänge wird also weniger als 0,1% der insgesamt abgeführten Wärmemenge verbraucht. Das ist für die in den Messungen angestrebte Genauigkeit ein vernachlässigbar kleiner Anteil. Der im Vergleich mit einem Eichthermometer experimentell ermittelte mittlere Meßfehler der Versuchseinrichtung beträgt bei einer Temperaturdifferenz von 10° zwischen Meßobjekt und Umgebung $\pm 0{,}1$.

b) Die Verletzungswärme. Um eine Verfälschung der Meßergebnisse zu vermeiden, wurde die Annahme HIMMERs geprüft, daß durch das Einstechen des Thermoelementes in die Biene eine Erhöhung der Thoraxtemperatur von 5—6° zu erwarten sei.

Befestigt man ein Thermoelement mit 0,5 cm der Zuleitung durch Wachs-Kolophonium unmittelbar auf der Dorsalseite des Thoraxpanzers, so folgt die von ihm angezeigte Temperatur sehr genau der Temperatur, die man mit einem in der Thoraxmuskulatur befindlichen zweiten Thermoelement registriert. Zwischen beiden Meßwerten besteht lediglich eine kleine zeitliche Verschiebung. In Abb. 1 ist der Temperaturgang dreier Thermoelemente wiedergegeben, von denen sich (1) in der Umgebung der Biene (Abstand 2 cm dorsal), (2) auf dem Thorax und (3) in

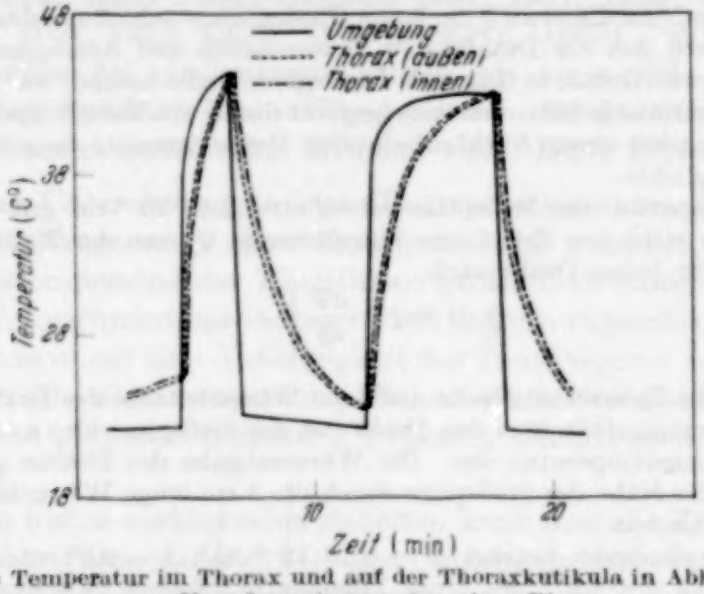

Abb. 1. Die Temperatur im Thorax und auf der Thoraxkutikula in Abhängigkeit von der Umgebungstemperatur einer Biene

der Thoraxmuskulatur befindet. Die Umgebungstemperatur des Versuchstieres wurde durch Umsetzen von einem Thermostaten in einen anderen möglichst rechteckig verändert. Die Elemente (2) und (3) zeigen den gleichen Temperaturverlauf mit einer kleinen zeitlichen Verschiebung. Dieser Versuch wurde mit verschiedenen Bienen mehrfach wiederholt. Auch bei aktivem Aufheizen der Biene war das Ergebnis gleich: Mit dem auf den Thorax aufgeklebten Thermoelement kann die Thorax-Innentemperatur genau registriert werden.

Versuchstiere wurden mit einem Thermoelement beklebt und mehrere Stunden in Ruhe gelassen. Brachte ich ihnen dann in der bei den späteren Messungen geübten Weise mit einer Präpariernadel eine Thoraxverletzung bei, so zeigte sich bei 50 Messungen in keinem Falle unmittelbar im Zusammenhang mit dem Einstich eine bemerkenswerte Temperaturzunahme.

Die von HIMMER vermutete Verfälschung der Meßergebnisse kommt nicht in Betracht. Bei den Messungen wird die tatsächliche Körpertemperatur zum Zeitpunkt der Messung ermittelt.

C. Ergebnisse

1. Körpertemperaturen bei der Sammeltätigkeit

Zu den Messungen der Körpertemperatur von Bienen bei der Sammeltätigkeit diente ein *Apis mellifica mellifica* L.-Volk. Es bewohnte einen

Zwei-Waben-Beobachtungsstock (nach v. Frisch). Zur Zeit der Messung waren beide Waben stark besetzt. Das Brutnest dehnte sich über die obere und untere Wabe aus. In die Scheibe setzte ich über der Tanzfläche ein Glastürchen ein, durch das ohne Störung der Stockgenossen Tiere zur Messung entnommen werden konnten. Der Beobachtungsstock stand an einem etwa 4 km langen, geraden und ebenen Feldweg, der an beiden Seiten mit Obstbäumen bewachsen war. Eine Schar Sammlerinnen wurde zunächst auf die für den Versuch erforderliche Futterplatz-Entfernung dressiert. Als Futter diente eine 2molare Saccharose-Lösung mit Vanilleduft, die in einem „pneumatischen Futtergefäß" (Beutler 1936) angeboten wurde, das auf einem etwa 1 m hohen Tischchen stand.

Zur Messung werden die Tiere mit einer Holzpinzette gegriffen. Nach Durchstechen des Chitinpanzers mit einer Präpariernadel dorsal zwischen den Flügelwurzeln kann das Thermoelement unter den Chitinpanzer geschoben werden. Die Ablesung der Temperatur erfolgt sofort, wenn das Galvanometer zur Ruhe gekommen ist[1]. Daraufhin wird das Element zur Bestimmung der Abdominaltemperatur rechts oder links vom Rückengefäß, zwischen 3. und 4. Abdominalsegment, durch die Intersegmentalhaut gesteckt. Wenn die Messungen vorsichtig mit einem glattgekratzten Thermoelement ausgeführt werden, sind die Verletzungen des Versuchstieres so unerheblich, daß es weiter am Futterplatz verkehrt und zu vielen Messungen benutzt werden kann. Das Thermoelement wird dann sofort nach dem Niedersetzen in die alte Meßverletzung eingehängt.

Die Umgebungstemperaturen wurden mit 2 Quecksilber-Thermometern bestimmt, von denen eines am Futterplatz und das andere in der Nähe des Stockes in 2 m Höhe angebracht war.

Um bei der Bestimmung der für die Bienen relativen Futterplatz-Entfernung (Windversetzung!) und der Außentemperatur eindeutige Werte zu erzielen, wurden die Messungen nur an windstillen Tagen durchgeführt.

a) Am Futterplatz. Die Körpertemperaturen von regelmäßigen Futterplatz-Besucherinnen wurden sofort nach dem Niedersetzen auf den Futtertisch gemessen. Sie zeigen für jede Futterplatz-Entfernung und Außentemperatur einen charakteristischen Wert (Abb. 2).

Die Thoraxtemperatur liegt zwischen 6° und 15° über der Umgebungstemperatur. Sie steigt mit der Umgebungstemperatur, bis sie einen Wert zwischen 35° und 37° erreicht, und erhöht sich nicht bei weiter ansteigender Umgebungstemperatur, sondern fällt sogar etwas ab. Die Außentemperaturen, bei denen der eben geschilderte Knick beobachtet werden kann, liegen zwischen 22° und 26°. Eine Ausnahme

[1] Vom Greifen bis zur Messung verstreichen etwa 5 sec.

von diesem Verhalten macht nur die Thoraxtemperatur der Besucherinnen des 50 m-Futterplatzes, bei der im Bereich bis 27° Außentemperatur ein Abfall der Thoraxtemperatur nicht beobachtet werden konnte. Allerdings erreichte die Thoraxtemperatur erst bei diesen hohen Außentemperaturen (27°) den Bereich von 35—37°.

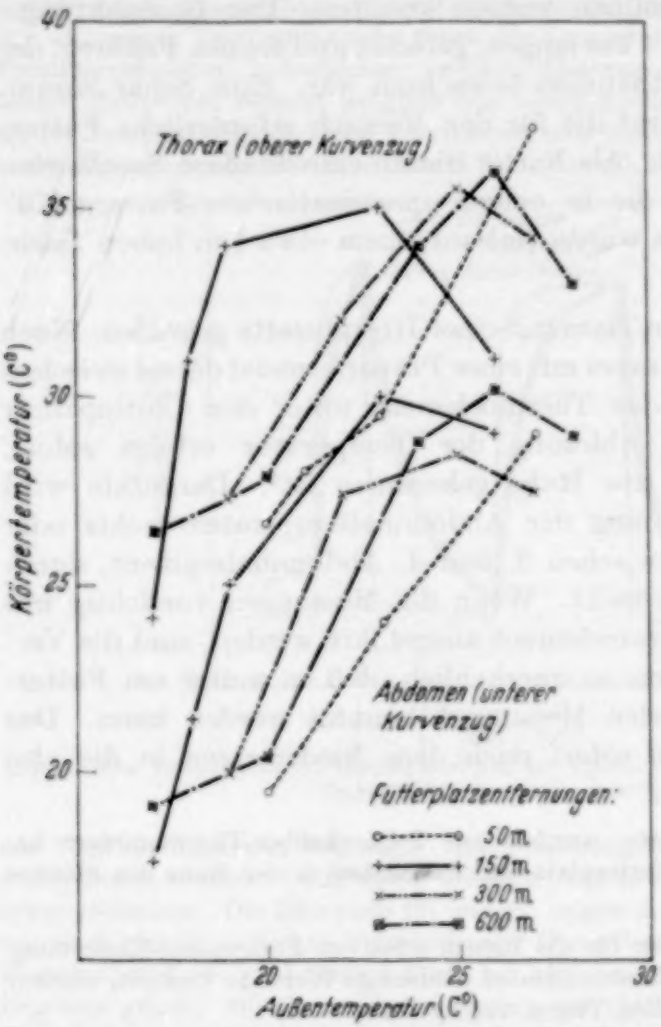

Abb. 2. Körpertemperaturen bei der Ankunft am Futterplatz in Abhängigkeit von der Außentemperatur

Eine Übersicht über die Zuverlässigkeit der Messungen gibt Tabelle 1.

Die Zahl der Messungen ist relativ gering. Auf Grund der geringen Streuung der Meßwerte verschiedener Versuchstiere wurden in jeder Versuchsreihe meist nur 5 Messungen am Futterplatz gemacht, der Meßplatz zum Stock verlegt und dort 5 Tiere gemessen, und dann wieder am Futterplatz bei weiteren 5 Tieren die Körpertemperatur bestimmt.

Da ich die Messungen allein durchführen mußte, war es mir nicht möglich, in einem Sommer mehr Material zusammenzustellen. Einmal waren die Versuche an bestimmte meteorologische Verhältnisse gebunden, und zum anderen bereitete die Überfüllung des Futterplatzes mit Sammlerinnen große Schwierigkeiten. Die Tänzerinnen wurden dadurch entscheidend gestört. Die Futterplatz-Ankunftstemperaturen sanken ab, und im Stock wurden Zittertänze aufgeführt. In solchen Situationen konnte ich mir etwas damit helfen, daß ich die unerwünschten Tiere mit einer Stoffgaze am Futterplatz festhielt und den Futtertisch mit den Tieren beseitigte. Die gezeichneten Bienen beobachtete ich dann an einem Ersatz-Futtertisch.

Um die Zufälligkeit der an einem Tag erzielten Meßwerte auszuschließen, wurden die Messungen zu einem späteren Zeitpunkt wiederholt. Dessen Wahl hing nur vom Eintreten günstiger Wetterverhältnisse ab. Die Ergebnisse zweier Tage differierten so, daß der Mittelwert eines Tages in den mittleren Fehlerbereich des anderen Tages fiel.

Tabelle 1. *Übersicht über die Messungen der Körpertemperaturen bei der Ankunft am Futterplatz*

Futterplatz-Entfernung m	Außentemperatur °C	Körpertemperatur °C	treuung ± °C	Mittlerer Fehler ± °C	Zahl der Messungen	Zahl der Versuchstage	Bemerkungen
50	20,0	26,6	1,78	0,40	20	2	Thorax
		19,5	0,88	0,28	20	2	Abdomen
	21,0	28,0	0,67	0,35	4	1	Thorax
		—	—	—	—	—	Abdomen
	23,0	29,5	1,38	0,30	21	3	Thorax
		24,0	1,09	0,32	21	3	Abdomen
	27,0	37,3	1,90	0,47	16	2	Thorax
		29,0	1,07	0,27	16	2	Abdomen
150	17,0	24,1	1,95	0,44	20	2	Thorax
		17,6	1,12	0,25	20	2	Abdomen
	18,0	31,0	2,30	0,73	10	1	Thorax
		21,4	1,33	0,42	10	1	Abdomen
	19,0	34,3	1,96	0,44	20	2	Thorax
		25,0	0,97	0,22	20	2	Abdomen
	23,0	35,0	0,38	0,18	20	2	Thorax
		25,0	1,60	0,36	20	2	Abdomen
	26,0	31,2	1,20	0,27	20	2	Thorax
		24,2	1,33	0,26	20	2	Abdomen
300	19,0	27,3	1,67	0,33	26	3	Thorax
		20,0	0,75	0,15	26	3	Abdomen
	22,0	33,0	1,34	0,30	20	2	Thorax
		27,4	0,40	0,09	20	2	Abdomen
	25,0	35,5	1,49	0,33	20	2	Thorax
		28,5	0,51	0,11	20	2	Abdomen
	27,0	34,2	0,67	0,21	10	1	Thorax
		27,5	1,05	0,33	10	1	Abdomen
600	17,0	26,3	1,17	0,26	20	2	Thorax
		19,1	0,83	0,19	20	2	Abdomen
	20,0	27,9	1,58	0,36	20	2	Thorax
		20,4	0,92	0,21	20	2	Abdomen
	24,0	34,3	0,80	0,18	20	2	Thorax
		28,8	1,10	0,25	20	2	Abdomen
	26,0	36,0	0,61	0,14	20	2	Thorax
		30,2	0,56	0,12	20	2	Abdomen
	28,0	33,6	1,80	0,40	20	2	Thorax
		29,0	0,76	0,17	20	2	Abdomen

Während des Saugens am Futterplatz ändern sich die Körpertemperaturen der Tänzerinnen nicht. Es war verhältnismäßig leicht, einer früher zur Messung verwendeten Biene während des Saugens ein Thermoelement in die alte Meßstelle einzuhängen, ohne daß das Tier seine Tätigkeit unterbrach. Bei den verschiedenen Futterplatzentfernungen wurde das für unterschiedliche Außentemperaturen geprüft. An kalten und regnerischen Tagen, an denen im Stock keine Tanztätigkeit zu beobachten ist, sinkt die Thoraxtemperatur während des Saugens langsam ab. Ist sie um 2—3° gefallen, wird das Saugen unterbrochen und die Körpertemperatur erhöht. Die Temperaturen der Neuankömmlinge liegen immer

um einige Grade unter denen der Tänzerinnen. Nach 4—5maligem Besuch des Futterplatzes erreichen sie die bei Tänzerinnen gefundenen Werte.

Die Sonneneinstrahlung hatte keinen merklichen Einfluß auf die Temperatur der Tänzerinnen. Das zeigte sich schon bei Gegenüberstellung der Temperaturen von Bienen nach Flügen in der Sonne mit denen nach Flügen im Schatten am gleichen Tage. Andererseits zeigen die an sonnigen Tagen vorgenommenen Messungen keinen signifikanten Unterschied zu denen von trüben Tagen.

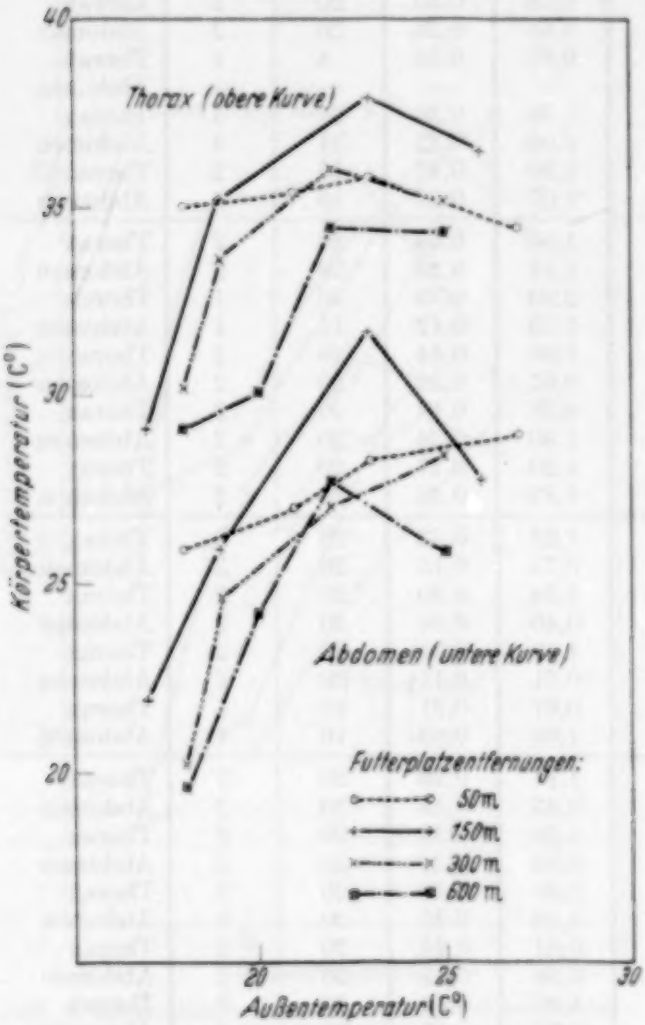

Abb. 3. Körpertemperaturen während des Tanzes in Abhängigkeit von der Außentemperatur

Die Abdomentemperaturen liegen bis zu 7° über der Umgebungstemperatur und somit unter den Thoraxtemperaturen. Sie weisen im wesentlichen den gleichen Gang mit der Außentemperatur auf wie die Thoraxtemperaturen. Einen Überblick über ihre Streuung, den mittleren Fehler, die Anzahl der Messungen und der Versuchstage gibt die Tabelle 1.

b) Im Stock. Die am Versuchsfutterplatz verkehrenden Tänzerinnen wurden während des Tanzes mit einer Pinzette aus dem Stock genommen und gemessen. Nach der Messung, die meist nur wenige Sekunden dauerte, wurden die Tiere wieder in den Stock gesetzt. Es kam häufig vor, daß die Versuchstiere sofort nach dem Einsetzen weitertanzten.

Die Ergebnisse der Messungen sind in Abb. 3 wiedergegeben. Bei den Tänzerinnen zeigt sich für jede Futterplatzentfernung und Außentemperatur eine charakteristische Körpertemperatur, ähnlich wie bei der Ankunft am Futterplatz. Die Thoraxtemperaturen liegen zwischen

29° und 38° und sind im allgemeinen etwas höher als die ihnen entsprechenden Werte am Futterplatz. Sie weisen aber einen analogen Gang mit der Außentemperatur auf. Eine Ausnahme machen wieder die 50 m-Tänzerinnen: Ihre Thoraxtemperaturen streuen sehr stark

Tabelle 2. *Übersicht über die Messungen der Körpertemperaturen während des Tanzes im Stock*

Futterplatz-Entfernung m	Außentemperatur °C	Körpertemperatur °C	Streuung ± °C	Mittlerer Fehler ± °C	Zahl der Messungen	Zahl der Versuchstage	Bemerkungen
50	18,0	35,0	4,70	0,94	25	2	Thorax
		25,9	3,05	0,61	25	2	Abdomen
	21,0	35,4	1,00	0,41	6	1	Thorax
		27,0	0,90	0,37	6	1	Abdomen
	23,0	35,8	1,44	0,37	15	2	Thorax
		28,3	1,03	0,27	15	2	Abdomen
	27,0	34,4	4,20	0,92	21	3	Thorax
		29,0	4,72	1,03	21	3	Abdomen
150	17,0	29,1	1,23	0,32	15	2	Thorax
		21,9	0,80	0,21	15	2	Abdomen
	19,0	35,2	1,00	0,44	19	2	Thorax
		25,9	1,29	0,30	19	2	Abdomen
	23,0	37,9	1,03	0,23	20	2	Thorax
		31,7	1,59	0,36	20	2	Abdomen
	26,0	36,5	1,10	0,28	15	2	Thorax
		27,8	1,13	0,29	15	2	Abdomen
300	18,0	30,2	0,45	0,18	6	1	Thorax
		20,2	0,63	0,26	6	1	Abdomen
	19,0	33,6	1,39	0,35	16	2	Thorax
		24,6	0,77	0,20	16	2	Abdomen
	22,0	36,0	1,70	0,42	17	3	Thorax
		27,0	1,29	0,29	17	3	Abdomen
	25,0	35,1	0,78	0,24	11	2	Thorax
		28,4	1,38	0,42	11	2	Abdomen
600	18,0	29,1	0,82	0,26	10	1	Thorax
		19,6	0,82	0,26	10	1	Abdomen
	20,0	30,0	1,70	0,38	20	2	Thorax
		24,2	0,89	0,20	20	2	Abdomen
	22,0	34,4	1,28	0,29	20	2	Thorax
		27,4	1,89	0,42	20	2	Abdomen
	25,0	34,3	1,28	0,29	20	2	Thorax
		25,8	1,63	0,36	20	2	Abdomen

um 35° für alle Temperaturen. Die direkten Umgebungstemperaturen der Tänzerinnen im Stock lassen sich nicht exakt bestimmen. Sie nehmen von der Mitte des Brutnestes gegen das Flugloch hin ab (von etwa 35° bis Außentemperatur) und wechseln daher mit dem jeweiligen Platz, den sich eine Tänzerin zum Tanzen wählt. Da sich der Tanzplatz mit zunehmender Futterplatzdistanz vom Flugloch entfernt (Boch 1956), kann man mit einer durchschnittlich höheren direkten

Umgebungstemperatur der Tänzerinnen für größere Futterplatzentfernungen rechnen.

Die Abdomentemperaturen liegen 6—10° unter den Thoraxtemperaturen, und weisen prinzipiell den gleichen Gang mit der Außentemperatur auf wie diese (ausgenommen die Nahtänze).

Tabelle 2 gibt einen Überblick über die Zuverlässigkeit der Messungen.

Die oben angegebenen Temperaturwerte gelten nur für einwandfreie Tänzerinnen, die schon einige Zeit (5—6mal) am Futterplatz verkehren. Neulinge und Tänzerinnen, die durch Störungen am Futterplatz (Überfüllung, Entfernen des Futterplatzes) zu Zittertänzen übergehen, weisen Körpertemperaturen auf, die um einige Grade unter den Normalwerten ungestörter Tänzerinnen liegen.

c) **Die „Nachläuferinnen".** Aus den vorhergehenden Untersuchungen kennen wir die Körpertemperaturen der am Futterplatz verkehrenden Sammlerinnen, die im Stock Tänze zur Anwerbung anderer Sammlerinnen ausführen. Es wurde auch schon festgestellt, daß die Thoraxtemperaturen der „Neulinge" unter den bei Tänzerinnen gefundenen Durchschnittswerten liegen. Die Beobachtung der Körpertemperaturen von Nachläuferinnen gibt Aufschluß darüber, in welcher Weise eine Stockbiene in das Temperaturverhalten der Sammlerinnen übergeht.

Der im folgenden Abschnitt beschriebene Versuch konnte nicht oft wiederholt werden, da es *einem* Beobachter nicht möglich ist, alle entscheidenden Vorgänge mit der nötigen Sicherheit festzuhalten:

Es wurden etwa 50 Stockbienen, die sich in der Nähe der Tanzfläche aufhielten, gezeichnet. Bei einer Außentemperatur von 18° wurde in 300 m Entfernung um 15 Uhr ein Futterplatz aufgestellt. Die gezeichneten Bienen wurden dauernd beobachtet. Als um 16^{30} Uhr starkes Tanzen für den Versuchsfutterplatz einsetzte, ergab die Messung der Körpertemperatur von 5 Bienen, die sich auf der Tanzfläche aufhielten, jedoch nicht tanzten, folgende Werte:

	Thorax	Abdomen
1.	20,0	20,0
2.	23,0	23,0
3.	21,0	21,0
4.	20,0	20,0
5.	22,5	22,5

Fünf Tänzerinnen zeigten Temperaturen von:

	Thorax	Abdomen
1.	29,0	21,0
2.	30,5	20,0
3.	30,5	22,0
4.	30,5	19,0
5.	30,5	20,5

Fünf Nachläuferinnen wurden abgefangen und gemessen, nachdem sie verschieden oft einer Tänzerin (durch je eine Schwänzelphase mit Rücklauf) gefolgt waren. Es ergab sich:

2mal gefolgt	Thorax 24,5	Abdomen 22,0
3mal gefolgt	Thorax 25,5	Abdomen 22,0
4mal gefolgt	Thorax 25,5	Abdomen 20,5
5mal gefolgt	Thorax 28,5	Abdomen 20,0
6mal gefolgt	Thorax 29,0	Abdomen 22,0

Auch bei den im nächsten Kapitel beschriebenen Versuchen, in denen mit Thermoelementen versehene Tiere „an der Leine" im Stock umherlaufen konnten, ist es mehrfach gelungen, Nachläuferinnen zu beobachten. Die Abb. 4 zeigt Thorax-, Umgebungs- und Untergrundstemperatur der Nachläuferin einer 300 m-Tänzerin. Das Element zur

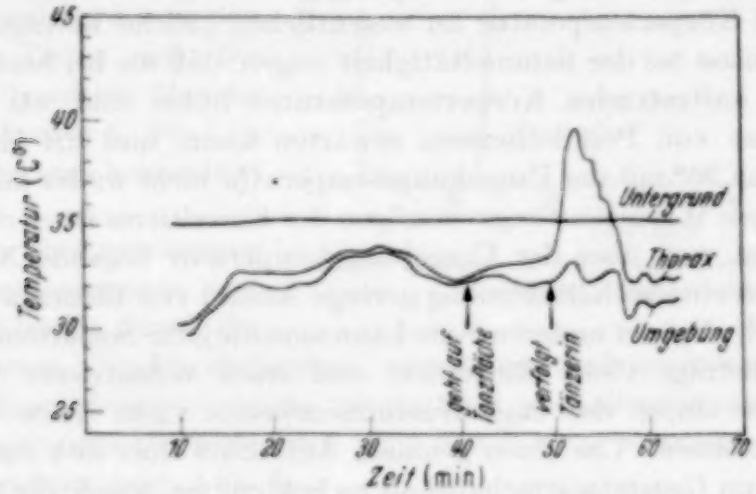

Abb. 4. Thorax- und Umgebungstemperatur einer Nachläuferin (Tanz für 300 m)

Messung der Umgebungstemperatur lag etwa 1,5 cm dorsal vom Thorax, während das Element zur Bestimmung der Untergrundstemperatur im Wachs des Tanzbodens untergebracht war. Es mußte darauf verzichtet werden, dem Versuchstier ein Thermoelement am Abdomen anzubringen, da eine Nachläuferin dadurch zu sehr behindert wird. Die Thorax- und die Umgebungstemperatur liegen zuerst 3—5° unter der Untergrundstemperatur. Schon während des Eindringens in den Tanzraum, wobei die Nachläuferin immer wieder mit Tänzerinnen zusammenstößt, zeigt sich ein leichtes Ansteigen der Thoraxtemperatur über die Umgebung. Als die Nachläuferin einer Tänzerin plötzlich durch mehrere Umläufe folgt, steigt die Thoraxtemperatur wie bei der Flugvorbereitung stark an (6° in 2,2 min). Durch die Zuleitungen der Thermoelemente behindert, verliert die Nachläuferin bald den Kontakt mit der Tänzerin; die Thoraxtemperatur fällt auf den Ausgangswert zurück.

Die Nachläuferin heizt offensichtlich beim Verfolgen einer Tänzerin die Thoraxtemperatur auf, wie man es an anderen Bienen bei der Flugvorbereitung sehen kann. In den letzten Nachläufen vor dem Ausflug schwirrt sie jeweils bei den Berührungen mit der Tänzerin in der Schwänzelphase auf. Das Aufschwirren kann man oft bei anderen Bienen kurz vor dem Ausflug beobachten, wenn die zum Abflug nötige Temperatur noch nicht ganz erreicht ist. Es besteht aus einem Abspreizen der Flügel und ruckartigem Schwirren mit denselben.

2. Körpertemperaturen einzelner Bienen im Stock

Die Angaben über die Temperaturverhältnisse im Körper einzelner Bienen während des Aufenthaltes im Stock stützen sich in den meisten Fällen auf die Vermutung, daß Umgebungs- oder gar Untergrundstemperatur und Körpertemperatur im wesentlichen gleiche Beträge haben. Die Verhältnisse bei der Sammeltätigkeit zeigen, daß die bei bestimmten Aktivitäten auftretenden Körpertemperaturen höher sind, als man es normalerweise von Poikilothermen erwarten kann, und bei Erreichen einer Zone um 36° mit der Umgebungstemperatur nicht weiter ansteigen. Bei dem hohen Wärmeleistungsvermögen des Einzeltieres ist es denkbar, daß die meist weit über der Umgebungstemperatur liegende Nesttemperatur durch eine verhältnismäßig geringe Anzahl von Bienen aufrechterhalten wird. Auf der anderen Seite kann man die hohe Sozialtemperatur auf kleine Beträge vieler Einzeltiere und stark verminderte Wärmeableitung, die durch das enge Zusammenrücken vieler Tiere bewirkt wird, zurückführen. Um einen genauen Aufschluß über den Anteil des Einzeltieres am Gesamtwärmehaushalt zu bekommen, wurde die Körpertemperatur von Einzeltieren über längere Zeitabschnitte beobachtet.

Die Versuchstiere werden oben aus dem Stock entnommen und auf die Oberseite des Thorax wird ein Thermoelement geklebt. Dieses Thermoelement zeigt sehr genau die Innentemperatur an (Abb. 1). Der für die Wärmeableitung von der Meßspitze wichtige Faktor $\frac{dT}{ds}$ (s. Untersuchungsmethodik) konnte dadurch klein gehalten werden, daß 0,5 cm der Zuleitung auf den Thorax mit festgeklebt wurden. Bei den meisten Versuchen saß ein zweites Thermoelement zwischen dem 3. und 4. Abdominalsegment. Ein 3. Element wurde 1—1,5 cm dorsal vom Thorax an der Zuleitung zur Bestimmung der Umgebungstemperatur befestigt. Nach der Präparation wurden die Versuchstiere wieder oben in den Stock eingesetzt und konnten sich an den reichlich bemessenen flexiblen Zuleitungen der Thermoelemente wie „an der Leine" im Stock bewegen.

Die Tiere wurden oben in den Stock eingesetzt, da sie in der Nähe des Flugloches sofort gekeilt und oft abgestochen werden. Beim „Keilen" umgibt eine Menge Stockbienen das Versuchstier traubenförmig und

bearbeitet es. Obwohl das eingekeilte Tier meist keinerlei Aktivität zeigt, steigen Thorax-, Abdomen- und Umgebungstemperatur bis 45° an (Abb. 5). Das kann man nur auf die große Aktivität der „keilenden" Bienen und die schlechte Wärmeableitung in der Bienentraube zurückführen.

Hält man etwa eine Stunde lang die Zuleitung sehr kurz, so daß das Versuchstier gezwungen ist an der oberen Decke des Stockes zu sitzen, so zeigt es nach Loslassen der Zuleitung ein normales Verhalten und wird von den anderen Tieren nicht besonders beachtet. Manche Tiere konnten bis zu 3 Wochen lang beobachtet werden.

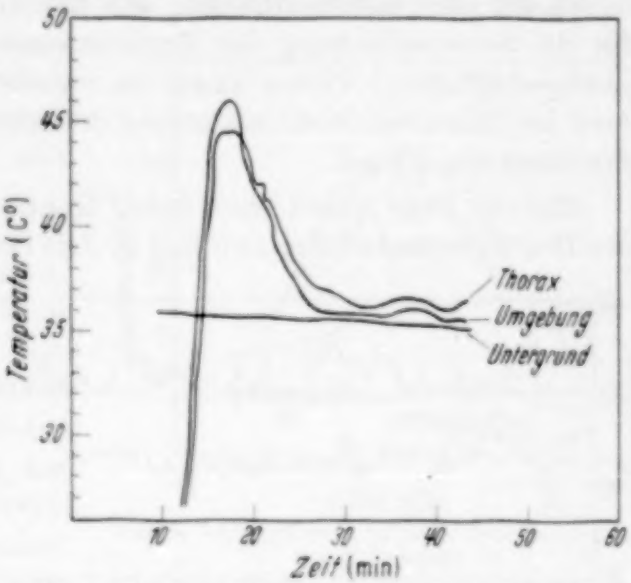

Abb. 5. Thorax- und Umgebungstemperatur einer beim Einsetzen „gekeilten" Biene

Der Temperaturgang der Thermoelemente wurde punktweise durch das mit einem Nachlaufschreiber versehene Galvanometer ermittelt. Jedes Thermoelement wurde automatisch wechselweise etwa 10 sec mit dem Galvanometer verbunden. Ein Stück eines so entstandenen Registrierstreifens zeigt Abb. 6.

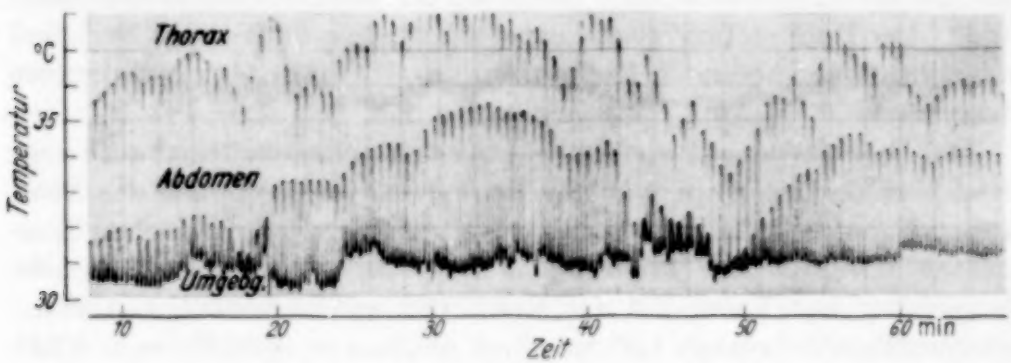

Abb. 6. Registrierbeispiel

a) „Unbeschäftigte" Tiere. Tiere, die regungslos auf den Waben sitzen, zeigen oft keine Temperaturdifferenz zwischen Thorax, Abdomen und Umgebung. Der Stoffwechsel ist offenbar auf ein Minimum reduziert. Maßgeblich für die Höhe der Körpertemperatur ist die Temperatur der umgebenden Luft. Der Untergrund auf dem sich das Tier aufhält,

kann einige Grade über oder unter der Körpertemperatur liegen. Im Sommer liegt die Körpertemperatur der „unbeschäftigten" Tiere zwischen 20° und 36°. Lebhafteres Umherkrabbeln erhöht die Thoraxtemperatur um 1—2° über Abdomen und Umgebung.

b) Bei der Konstanthaltung der Brutnesttemperatur. Bienen, die für die Konstanthaltung der Brutnesttemperatur sorgen, sind von den „unbeschäftigten" Tieren kaum zu unterscheiden. Selten beobachtet man bei ihnen ein leichtes Pumpen des Abdomens oder ein ruckartiges Spreitzen der Flügel.

Manche Tiere sitzen ohne jeden Kontakt mit anderen Bienen auf der Brutwabe und rücken von Zeit zu Zeit ein Stückchen weiter. Andere

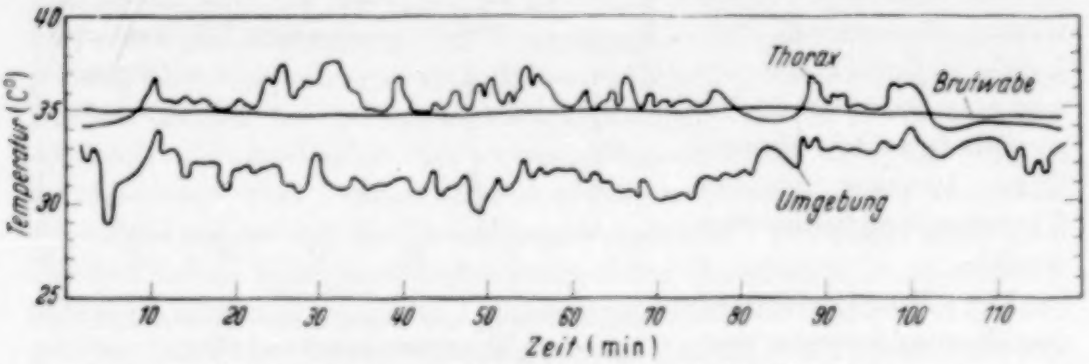

Abb. 7. Temperaturverhältnisse bei der Brutnestbeheizung

Tiere hängen sich in langen Zöpfen über die Brutwabe, indem sich jedes Tier mit den Vorderbeinen an die Hinterbeine eines über ihm hängenden Tieres klammert. Man kann das besonders gut bei starkem Auskühlen des Beobachtungsstockes nach Entfernen der Wärmeisolation einer Seite sehen. Der Temperaturverlauf an den am Thorax, in der Umgebung und in der Brutwabe liegenden Meßpunkten bei einer etwa 90 min dauernden Heizperiode ist in Abb. 7 wiedergegeben.

Die Thoraxtemperatur steigt in zahlreichen Heizsprüngen auf einige Grad über die der Wabe und fällt nach dem Heizsprung auf das Brutwabenniveau zurück. Zwischen Thorax und Umgebung bestehen Temperaturdifferenzen bis zu maximal 10°. Beim Aufheizen steigt die Temperatur fast linear mit der Zeit. Die durchschnittliche Aufheizgeschwindigkeit beträgt 1,9° min^{-1}, $n = 29$, $s = \pm 0{,}73°$, $m = 0{,}13°$.

Die Reaktion des Einzeltieres auf eine Überhitzung des Brutnestes zeigt ein Versuch, in dem die Brutwabentemperatur durch eine 100 Watt-Infrarotlampe erhöht wird. Die Lampe wurde 50 cm von der Brutwabenmitte aufgestellt und die Brutwabe senkrecht von ihr bestrahlt (Abb. 8).

Die Temperatur der Brutwabe und die des Thorax einer auf ihr sitzenden Biene erhöhen sich langsam. Zunächst steigen Thorax- und Umgebungstemperatur ohne Differenz an. Bei 40° setzt die Ventilation

des Versuchstieres mit den Flügeln ein. Während die Körpertemperatur weiter ansteigt (bis maximal 46°), gelingt es dem Tier, die Umgebungstemperatur bis zu 3° unter die Körpertemperatur zu drücken. Die Brutwabentemperatur zeigt bald nach dem Einsetzen der Ventilation wieder einen konstanten aber erhöhten Wert. Nach Abschalten der Heizsonne sinken alle Temperaturen langsam auf ihre ursprünglichen Werte zurück. Ähnliche Temperaturverhältnisse fanden sich in 10 Versuchen.

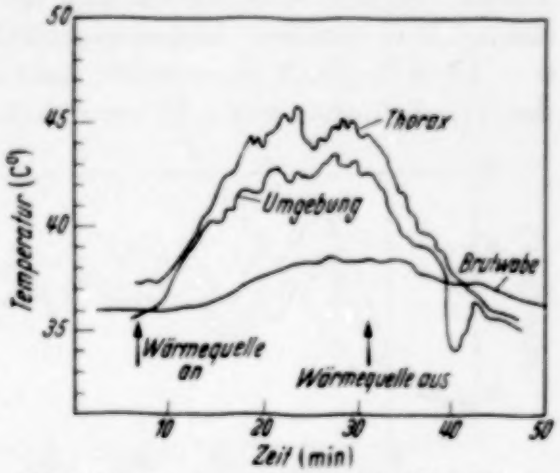

Abb. 8. Temperaturverhältnisse bei Überhitzung des Brutnestes

c) In der Wintertraube. Die Bestimmung von Körpertemperaturen bei Bienen in der Wintertraube stützt sich auf Versuche, die von Dezember 1958 bis März 1959 durchgeführt wurden. Das Versuchsvolk befand sich dabei in einem Beobachtungsstock nach v. FRISCH, der in einem ungeheizten Raum aufgestellt war. Die Versuchstiere konnten sich wie in den vorher beschriebenen Versuchen „an der Leine" durch den ganzen Stock bewegen. Sie werden von den anderen Bienen im Gegensatz zum Sommer ohne weiteres angenommen. Einzelne Tiere wurden 14 Tage bis 3 Wochen lang beobachtet.

Abb. 9. Einzelbiene am Rand der Wintertraube

Während der ganzen Versuchszeit fand sich kein Tier, dessen Körpertemperatur unter 18° sank, obwohl an vielen Versuchstagen die Stock-Innentemperatur in Fluglochnähe Werte von —5° unterschritt. Die Versuchstiere hielten sich an solchen Tagen häufig am Rande der Traube auf (Hautbienen).

In den Außenbezirken der Wintertraube liegen Thorax-, Abdomen- und Umgebungstemperatur (0,5 cm dorsal vom Thorax) nahe beieinander. Der Thorax kann die beiden anderen Temperaturen um 1—2° überschreiten (Abb. 9). Die Tiere hängen meist bewegungslos da, ab und zu sieht man ein leichtes Pumpen des Abdomens.

Das Einwandern in die Traube erfolgt ohne erkennbaren Anlaß. Es konnte nicht beobachtet werden, daß ein Kältereiz die Tiere zum plötzlichen Aufheizen veranlaßt (ARMBRUSTER 1922). Vielmehr stiegen die Temperaturen der 3 Meßpunkte beim Einwandern in Bezirke

wärmerer Umgebung zunächst gleichmäßig an. Die Thoraxtemperatur erhob sich dann langsam über Abdominal- und Umgebungstemperatur. Beim Aufenthalt in der Mitte der Traube lag sie durchschnittlich 3—6° über der Abdominaltemperatur, die sich in Höhe der Umgebungstemperatur bewegte. Dabei zeigte sie zahlreiche Heizsprünge, wie man sie an Tieren bei der Konstanthaltung der Brutnesttemperatur beobachten kann. Die mittlere Aufheizgeschwindigkeit beträgt dabei 1° min^{-1}, $n = 14$, $s = \pm 0{,}3$, $m = 0{,}08°$, Zahl der Tiere = 4. Der Aufenthalt in der Traubenmitte war sehr verschieden lang und dauerte bis zu 12 Std.

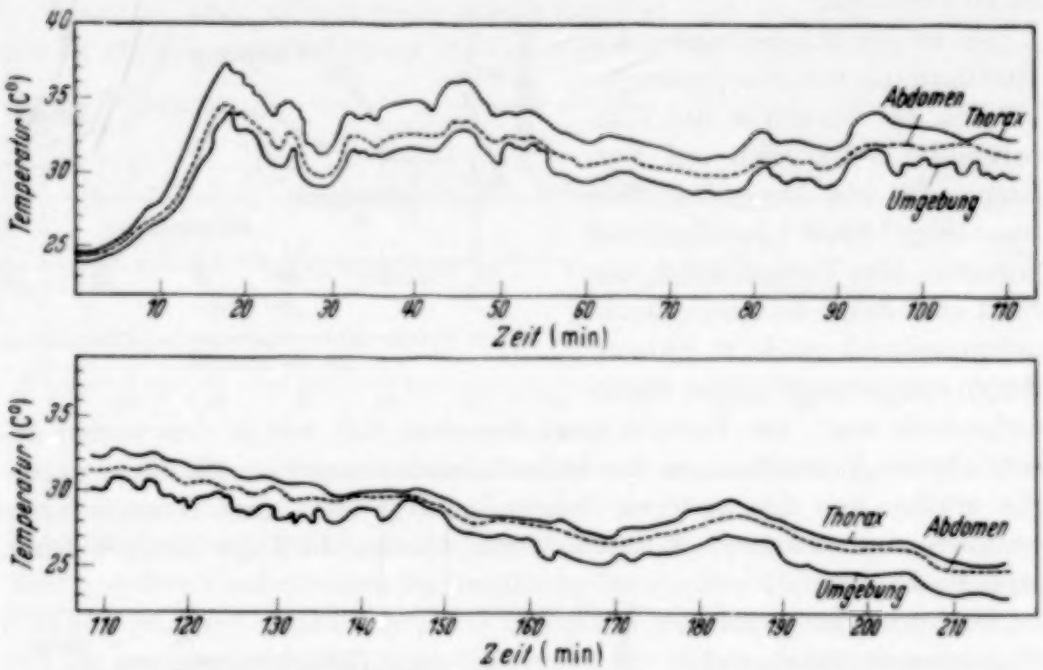

Abb. 10. Bienen in der Wintertraube. Eine 210 min dauernde Registrierung

Das Tier verließ das Wärmezentrum entweder analog dem eben beschriebenen Einwandern (also in etwa 20 min), oder entfernte sich langsam in mehreren Stunden vom Wärmezentrum, wobei die Höhe der Heizsprünge der Thoraxtemperatur immer mehr zurückging und die Thoraxtemperatur sich der Abdominal- und Umgebungstemperatur annäherte (Abb. 10).

Aus 146 Beobachtungsstunden wurde die durchschnittliche relative Aufenthaltsdauer (Gesamtzeit = 100%) von 6 Tieren bei den verschiedenen Thoraxtemperaturen bestimmt. Das Ergebnis zeigt die Abb. 11. Die Thoraxtemperaturen liegen zwischen 20° und 36°. Die durchschnittliche relative Aufenthaltsdauer zeigte eine Normalverteilung um 28—29°. Die Einzeltiere haben keine feste Rhythmik in der Wanderung durch die Traube, wie man es nach der Wärmetheorie für die Wintertraube (ARMBRUSTER 1922) vermuten müßte. Schließt man aus der relativen Aufent-

haltsdauer der Einzelbienen bei verschiedenen Thoraxtemperaturen auf die Zahl der Tiere in diesen Temperaturzonen, so kommt man zu dem Schluß, daß auch in der Wintertraube immer ein Wärmezentrum

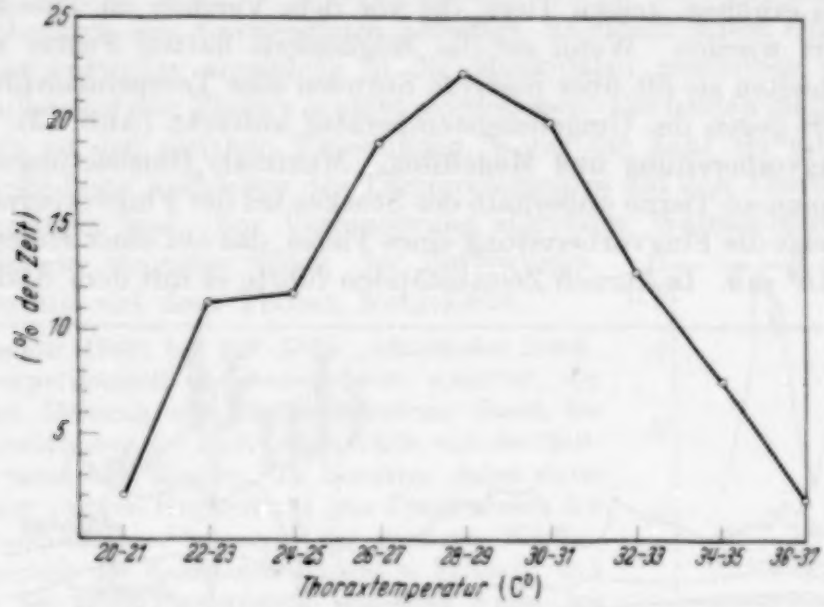

Abb. 11. Durchschnittliche relative Aufenthaltsdauer der Einzelbiene in der Wintertraube bei den verschiedenen Thoraxtemperaturen

mit einer Temperatur von 36° existiert. Nur ist die Zahl der Bienen, die diese Temperatur aufrechterhalten, im Vergleich zum Sommer sehr gering. Das Wärmezentrum ist daher eng begrenzt.

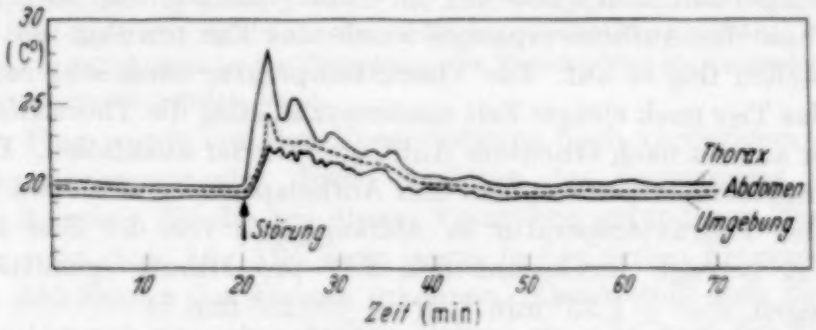

Abb. 12. Temperaturverhältnisse bei einer Störung in der Wintertraube

Störungen der Wintertraube durch Klopfen an den Stock oder Öffnen desselben, die von den in Ruhe sitzenden Bienen durch Aufschwirren beantwortet werden, führen zu einer schlagartigen Erhöhung von Thorax-, Abdominal- und Umgebungstemperatur (Abb. 12). Die Thoraxtemperatur erhöht sich dabei um 8—10° über ihren ursprünglichen Wert, zeigt etwa 20 min starke Unruhe mit mehreren Heizsprüngen und kehrt allmählich auf ihren Ausgangswert zurück.

3. Körpertemperaturen einzelner Bienen außerhalb des Stockes

a) Im Thermostat. Daß auch Einzeltiere außerhalb des Stockes in der Lage sind, längere Zeit ihre Körpertemperatur über die der Umgebung zu erhöhen, zeigen Tiere, die vor dem Versuch im Thermostat aufbewahrt wurden. Wenn sie die Möglichkeit hatten Futter aufzunehmen, hielten sie oft über mehrere Stunden eine Temperaturdifferenz von 5—10° gegen die Umgebungstemperatur aufrecht (Abb. 13).

b) Flugvorbereitung und Modellflug. Maximale Heizleistungen beobachtet man an Tieren außerhalb des Stockes bei der Flugvorbereitung. Abb. 14 zeigt die Flugvorbereitung eines Tieres, das auf einer Holzunterlage von 18° saß. In kurzen Zeitabständen führte es mit dem Abdomen

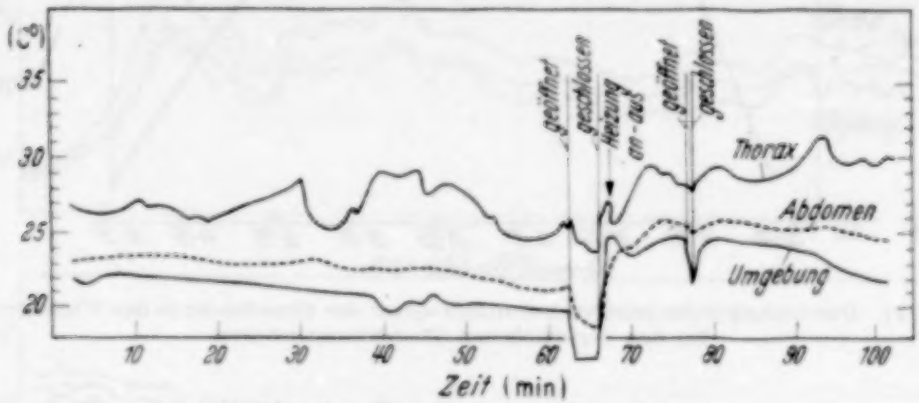

Abb. 13. Einzelbiene im Thermostat

Pumpbewegungen aus. Die Thoraxtemperatur stieg bei einer Umgebungstemperatur von etwa 18° in 5 min von 20° auf 36°. In der letzten Phase des Aufheizvorganges wurde das Tier unruhig und putzte sich. Plötzlich flog es auf. Die Thoraxtemperatur sank sehr rasch ab. Als sich das Tier nach einiger Zeit niedersetzte, stieg die Thoraxtemperatur wieder an, um nach erneutem Auffliegen wieder abzufallen. Die Abdomentemperatur erhöhte sich in den Aufheizperioden um etwa 2°, der Anstieg der Thoraxtemperatur in Abhängigkeit von der Zeit ist fast linear, und beträgt durchschnittlich 2,1° pro Minute (gemittelt aus 25 Messungen, $s = \pm 1{,}25°\ \text{min}^{-1}$, $m = \pm 0{,}25°\ \text{min}^{-1}$).

Der starke Abfall der Thoraxtemperatur während des Fluges deutet darauf hin, daß die während des Fluges erzeugte Wärmemenge nicht viel höher als die bei der Flugvorbereitung erzeugte sein kann. SOTAVALTA (1954) hat die Thoraxtemperatur fliegender Bienen am Karussell bestimmt und kam zu dem Ergebnis, daß sie durchschnittlich 10° über der Umgebungstemperatur liegt. Er stellte fest, daß die Thoraxtemperatur durch das Gleichgewicht erzeugte = abgeführte Wärmemenge bestimmt wird. Aus seinen Experimenten sind die Temperatur-Ausgleichvorgänge zu Beginn des Fluges nicht ersichtlich. Seine Versuche

wurden daher mit nichtnarkotisierten Tieren wiederholt. Das bei diesen Untersuchungen benutzte Karussell entsprach im wesentlichen dem von SOTAVALTA (1954) beschriebenen Modell. Die Länge des Dreharmes betrug 20 cm. Die zu untersuchenden Tiere wurden mit Wachs-Kolophonium am Karussellarm befestigt, nachdem ihnen ein Thermoelement entweder vorsichtig in die Muskulatur geschoben oder aber von außen auf den Thorax geklebt worden war. Die beiden Meßtechniken führten zu den gleichen Ergebnissen, wobei die Zahl der mißglückten Versuche beim Aufkleben des Thermoelementes auf den Thorax wesentlich geringer war. Zur Verhinderung störender Wärmeableitung wird jeweils ein längeres Stück der Zuführungsdrähte mit auf dem Thorax festgeklebt.

KROGH (1948) hat mit Hilfe „künstlicher Insekten" experimentell die Anzeigefehler ermittelt, die bei der Messung mit Thermoelementen durch die Wärmeableitung der Zuführungsdrähte von der Meßspitze entstehen können. Er benutzte dabei einen 0,07 mm starken Kupferdraht (der Durchmesser des Konstantandrahtes ist wegen der geringen Wärmeleitfähigkeit des Konstantans nicht so kritisch) und stellte bei einer Einstichtiefe von etwa 3 mm, bei Windstille in der Umgebung des Meßobjektes, Meßfehler bis zu 12% (Prozent von der Temperaturdifferenz zwischen Meßobjekt und dessen Umgebung) fest, die sich bei einer Windstärke von 1—2 m/sec auf 26% erhöhen konnten. Nach Wärmeisolierung der Zuleitungsdrähte war der Fehler auf maximal 2% bei Windgeschwindigkeiten bis zu 6 m/sec reduziert.

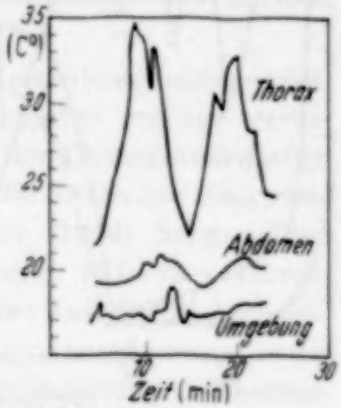

Abb. 14. Körpertemperaturen bei der Flugvorbereitung

Durch vergleichende Messungen mit wärmeisolierten Zuführungsdrähten und Thermoelementen, bei denen 1—2 cm der Zuführungsleitung auf dem Thorax festgeklebt war, ergab sich, daß durch das Aufkleben der Zuführungsdrähte bei größeren Windgeschwindigkeiten in der Umgebung des Meßobjektes eine ausreichende Meßgenauigkeit erzielt werden kann.

Der Flug wurde von den Versuchstieren nach vorherigem Aufheizen spontan begonnen oder durch Auslösen des Tarsenreizes veranlaßt. Einige Beispiele für die bei diesen Versuchen gefundenen Temperaturkurven zeigt Abb. 15. Alle Tiere lassen in den ersten Flugminuten eine starke Abkühlung des Thorax erkennen. Dann stellt sich die Thoraxtemperatur auf einen konstanten Betrag ein. Er liegt bei diesen Versuchen zwischen 3° und 8,5° über der Umgebungstemperatur. Die Fluggeschwindigkeit betrug durchschnittlich 1,5 m/sec.

Versuche, bei denen Bienen an einem Thermoelement mit sehr langen Zuleitungen frei im Raum fliegen können, und dabei ein erhebliches Gewicht (Zuleitung) tragen, zeigen den gleichen Temperaturverlauf wie die Karussell-Versuche.

Die Ergebnisse vorstehender Versuche lassen sich nicht ohne weiteres auf den freien Flug übertragen.

e) Wärmeaustausch mit der Umgebung. Bei allen Messungen der Körpertemperatur von Bienen kann man erkennen, daß der Bienenkörper eine sehr schlechte Wärmeisolation gegen seine Umgebung besitzt und schon in Ruhe eine starke Wärmeableitung zeigt, die durch rein physikalische Vorgänge hervorgerufen wird. Der Betrag dieser Wärmeableitung des Thorax an seine Umgebung wurde experimentell ermittelt. Dazu wurden die Abkühlungskurven von 1. mit CO_2 narkotisierten Tieren, 2. durch CO_2 getöteten Tieren und 3. vom Thorax allein der unter 1. und 2. genannten Tiere bei Windstille aufgenommen. Das Thermoelement befand sich bei einem Teil der Versuche im Thorax, bei einem anderen Teil war es von außen auf ihn mit Wachskolophonium festgeklebt. Beim abgetrennten Thorax wurden die Wundstellen durch Wachskolophonium verschlossen.

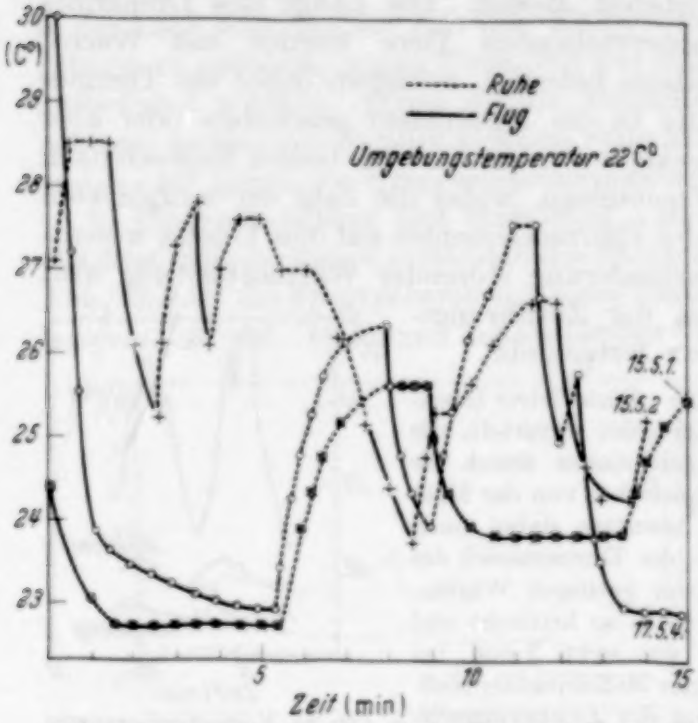

Abb. 15. Thoraxtemperaturen beim Flug am Karussell

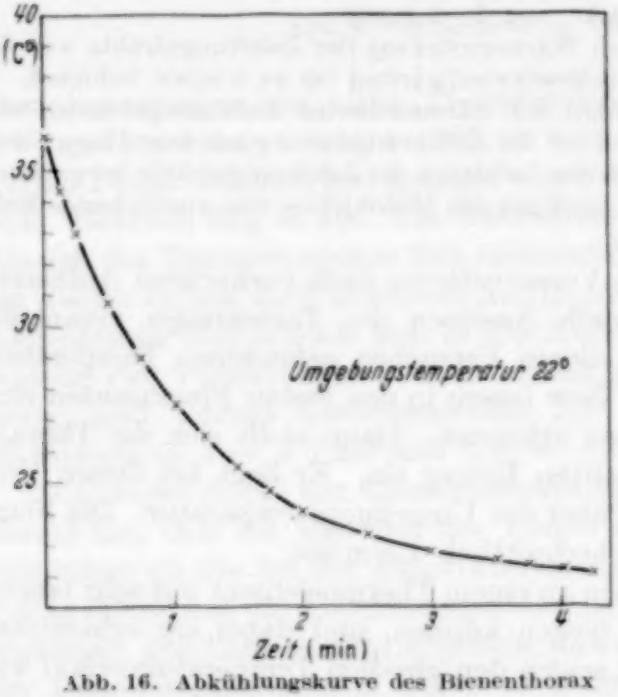

Abb. 16. Abkühlungskurve des Bienenthorax

Bei den Versuchen wurde der Thorax mit einer Infrarot-Lampe auf 40° erhitzt und frei in einem Thermostaten von 22° aufgehängt. Zwischen den Abkühlungskurven der drei verschiedenen Typen ist kein Unterschied festzustellen. Die gemeinsame Abkühlungskurve ist in Abb. 16 wieder-

gegeben. Sie zeigt eine durch das Newtonsche Erkaltungsprinzip festgelegte Gesetzmäßigkeit.

4. Lokalisierung und Identifizierung der Heizquelle

Bei allen Versuchen, die dieser Untersuchung zugrunde liegen, hat sich gezeigt, daß die Thoraxtemperatur einer Biene nur in Perioden der Inaktivität sich der Abdominaltemperatur angleicht. In allen anderen Fällen übersteigt sie die Abdominaltemperatur erheblich. Letztere kann sich nur im Gefolge der Thoraxtemperatur über die Umgebung erheben, und bleibt in ihren Beträgen immer hinter der Thoraxtemperatur zurück. Der Thorax ist offenbar Sitz der Heizquelle.

Auf elektrophysiologischem Wege wurde die Vermutung nachgeprüft, daß die Wärme durch Zittern der Thoraxmuskulatur erzeugt werde. Ein Thermoelement kontrollierte die Temperatur der Thoraxmuskulatur, und diente zugleich als indifferente Elektrode. Die differente Elektrode bestand aus der Spitze einer nach BURKHARDT (1954) hergestellten Stahlelektrode, die an einen dünnen Kupferdraht (0,01 mm Durchmesser) gelötet wurde. Die Lötstelle und der größte Teil der Elektrodenspitze waren mit Lack isoliert. Die unisolierte Spitze wurde dorsal in die Thoraxmuskulatur gesteckt. Nach Befestigung der Zuleitungen (Thermoelement, differente Elektrode) mit Wachskolophonium konnte das Tier in den mit einer Aluminium-Folie elektrisch abgeschirmten Beobachtungsstock zurückgesetzt werden. Über einen RC-Verstärker wurden die Aktionspotentiale der Muskulatur abgehört. In den Heizperioden war ein Knacken hoher Frequenz hörbar (das Geräusch ist dem von einer fliegenden Biene erzeugten Geräusch sehr ähnlich). Das Summen war eindeutig nur den Heizperioden zugeordnet. Die Wärme entsteht also durch Muskeltätigkeit.

D. Diskussion

1. Körpertemperatur und Stoffwechsel

Die in der Abb. 16 wiedergegebene Gesetzmäßigkeit zeigt die Auskühlung des Thorax einer am Ort ruhenden Biene, wenn ihm keine neue Wärme zugeführt wird. Aus dem Anstieg dieser Kurve bei verschiedenen Temperaturdifferenzen und der spezifischen Wärme der Thoraxgewebe, die man mit 0,8 cal·grd^{-1} annähern kann, läßt sich die bei den verschiedenen Temperaturdifferenzen pro Zeiteinheit abgegebene Wärmemenge berechnen. Die kleine Phasenverschiebung der Abkühlungskurve der Thorax-Außenschichten gegen die des Thoraxkernes wird dabei vernachlässigt. Den Zusammenhang zwischen der Temperaturdifferenz des Thorax zur Umgebung und der bei dieser Differenz abgeführten Wärmemenge pro Zeiteinheit zeigt die Abb. 17.

Die Wärmemenge, die dem Thorax durch den Kreislauf zusätzlich entzogen wird, kann man abschätzen. Nimmt man das Volumen der zirkulierenden Hämolymphe einer Biene mit 0,01 mm³ an [das ist die Maximalmenge, die BEUTLER (1936) bei der Untersuchung des Blutzuckerspiegels einer Biene entnehmen konnte] und berücksichtigt die Kreislaufgeschwindigkeit mit 2 min für eine Umwälzung [nach einem von SNODGRAS (1956) beschriebenen Versuch, den man leicht wiederholen kann, dauert es etwa 2 min, bis die in den Thorax injizierte Eiweißtusche im Rückengefäß erscheint], so wechseln 0,005 mm³ Hämolymphe pro Minute vom Thorax in das Abdomen. Das entspricht bei völligem

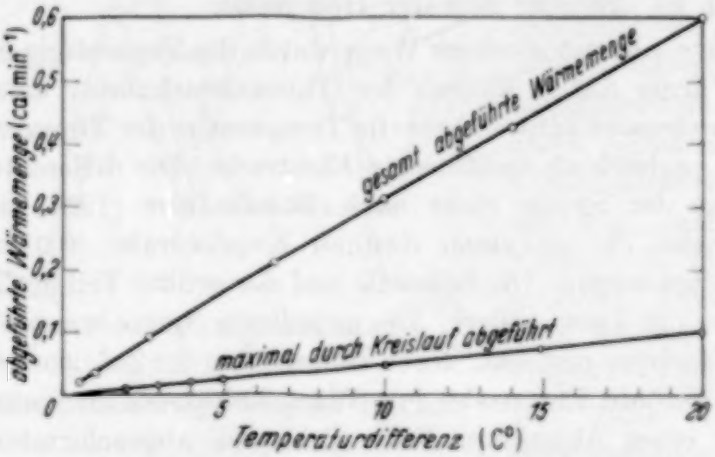

Abb. 17. Vom Thorax abgeführte Wärmemenge in Abhängigkeit von der Temperaturdifferenz zwischen Thorax und Umgebung

Temperaturausgleich in Thorax und Abdomen einem Wärmetransport von 0,005 cal·grd^{-1}·min^{-1}. Es handelt sich hierbei um die Abschätzung des Maximalwertes. Die durchschnittlich auftretenden Werte liegen darunter.

Konstanz der Körpertemperatur tritt ein, wenn pro Zeiteinheit erzeugte und abgeführte Wärmemenge gleich sind. Man kann daher mit Hilfe der in Abb. 17 wiedergegebenen Kurve aus der Körpertemperatur einer Biene die von ihr erzeugte Wärmemenge abschätzen (und umgekehrt).

JONGBLOED und WIERSMA (1935) bestimmten den Sauerstoffverbrauch und den Respirationskoeffizienten von Bienen in Ruhe und während des Fluges. Beim Ruhestoffwechsel fanden sie einen Verbrauch von 30 mm³ Sauerstoff pro Gramm Biene und Minute. Im Kohlehydratstoffwechsel (Respirationskoeffizient = 1) entspricht das einer Erzeugung von 0,15 cal·min^{-1}. Man kann daraus herleiten, daß die Thoraxtemperatur der von ihnen benutzten Tiere (Gewicht einer Biene etwa 0,1 g), weniger als 0,4° von der Umgebungstemperatur verschieden war.

Aus den Thoraxtemperaturen, die in unseren Versuchen an „ruhenden Tieren" gefunden wurden, lassen sich die enormen Abweichungen bei den Bestimmungen des „Ruhestoffwechsels" durch die verschiedenen Untersucher erklären.

Während der Flugvorbereitung (Abb. 14) steigt die Temperaturdifferenz zwischen Thorax und Umgebung auf 16° an. Zur Aufrechterhaltung dieser Temperaturdifferenz werden etwa 0,5 cal · min^{-1} benötigt.

Beim Übergang zum Flug steigt der Sauerstoffkonsum nach Jongbloed und Wiersma (im wesentlichen bestätigt durch Beutler 1936 und Sotavalta 1954) auf 1450 mm^3 pro Minute und Gramm Tier. Das entspricht einer Wärmeleistung von 5,06 · 1,45 = 7,34 cal · min^{-1} pro Gramm Biene. Auf das Einzeltier entfallen also 0,734 cal · min^{-1}. Subtrahiert man davon die für den Ruhestoffwechsel (Körperfunktionen) erforderlichen 0,015 cal · min^{-1} und berücksichtigt die für die mechanische Leistung des Fluges benötigte Energie mit 3—4% des Gesamtumsatzes (nach Williams, Krogh und Zeuthen, Magnan und Planiol: aus Roeder, "Insect Physiology"), so beträgt die in Wärme umgewandelte Energie etwa 0,69 cal · min^{-1} pro Tier.

Sotavalta (1954) findet in seinen Karussellversuchen bei Flugbienen eine durchschnittliche Differenz von 10° zwischen Thorax und Umgebung nach einigen Minuten Flugzeit. Die Thoraxtemperaturen der Bienen bei Ankunft an weiter entfernten Futterplätzen liegen bei niedrigen Außentemperaturen ebenfalls um 10° über der Umgebung. Bei Einstellung der Thoraxtemperatur auf diesen Wert werden etwa 0,3 cal · min^{-1} unter Berücksichtigung der für ruhende Bienen geltenden Wärmeableitung abgeführt. Weitere 0,39 cal · min^{-1} werden durch flugspezifische Vorgänge abgegeben. Den größten Anteil an der höheren Wärmeabführung hat die Luftbewegung.

Den Einfluß der Wasserverdunstung (Transpiration) auf die Wärmeabgabe kann man abschätzen, wenn man berücksichtigt, daß die Gewichtsabnahme während des Fluges genau der Menge des verbrannten Zuckers entspricht (Jongbloed und Wiersma 1935). Bei einem Zuckerverbrauch von 10 mg · h^{-1} werden 5,8 mg · h^{-1} Wasser frei. Die Verdunstungswärme des Wassers beträgt 580 cal pro Gramm. Es werden also maximal 3,36 cal · h^{-1} abgeführt. Das entspricht 0,055 cal · min^{-1}. Das sind 8,7% der gesamt abgeführten Wärmemenge. Einen ähnlichen Wert errechnete Weis-Fogh (nach Roeder 1953) für *Schistocerca*, nämlich etwa 10%. Einen entscheidenden Einfluß auf den Wärmehaushalt des Fluges kann die Transpiration nicht haben. Der Überblick über den Wärmehaushalt des Einzeltieres zeigt, daß die Biene kein erwähnenswertes Wärmespeichervermögen besitzt. Daher entsprechen sich

bei ihr — anders als bei den Homoiothermen — auch über kurze Zeitabschnitte erzeugte und abgeführte Wärmemenge. Der Betrag ihres Stoffwechsels wird im wesentlichen durch die Temperaturdifferenz zwischen Körper und Umgebung bestimmt.

2. Auftreten von Regulationsvorgängen beim Einzeltier

a) Sammeltätigkeit. Die Thoraxtemperatur von Sammlerinnen, die regelmäßig einen weiter entfernten Futterplatz aufsuchen (Abb. 2), liegt im Bereich von 17° — etwa 25° Außentemperatur rund 10° über dieser (bei Ankunft am Futterplatz). Erreicht sie einen Betrag um 35°, so wächst sie mit steigender Außentemperatur nicht weiter an. Es tritt offenbar eine Regulation ein.

Die Wärmeabführung bei ruhenden Bienen erfolgt nach dem Newtonschen Erkaltungsprinzip und zeigt keine Unregelmäßigkeiten, die zu einer Erklärung der oben beschriebenen Regulation ausreichen.

Bei Insekten mit kutikulärer Transpiration stellt sich im Bereich zwischen 30° und 40° ein Sprung in der Verdunstungsrate ein, den man auf das Verhalten einer auf der Kutikula liegenden Wachsschicht zurückführen kann, die von einer kritischen Temperatur an starke Wasserdurchlässigkeit zeigt (WIGGLESWORTH 1946). Nach den Untersuchungen von BEAMENT (1945) liegt diese kritische Temperatur für Bienenwachs bei 55°. Das von WIGGLESWORTH beschriebene Phänomen kann nicht die Ursache des Knickes in der Temperaturkurve der Sammlerinnen sein. EDER (1940) beobachtete den Farbumschlag einer feuchtigkeitsempfindlichen Substanz, mit der sie die Versuchstiere bestrich, und konnte bei Hymenopteren (*Bombus*, *Vespa*) bis etwa 40° keine Wasserdurchlässigkeit der Kutikula beobachten.

Die spirakuläre Transpiration gibt ebenfalls keine Erklärung für eine sprunghafte Änderung der Wasserabgabe. Bei steigender Temperaturdifferenz zwischen Biene und Umgebung wächst die mögliche Verdunstungsrate kontinuierlich. Sie hängt außerdem kontinuierlich von der relativen Luftfeuchtigkeit ab. Eine Regulation durch Öffnen oder Schließen der Atemmale kommt nicht in Betracht, da die Tracheen bei dem starken CO_2-Anfall während des Fluges immer geöffnet sind (BAILEY 1954).

Die eben erörterten potentiellen Regulationsmöglichkeiten wären in ihrer Wirksamkeit von vorneherein beschränkt, da für die Transpiration nur eine begrenzte Wassermenge zur Verfügung steht (s. oben), zur Abführung von 0,5 cal·min^{-1} aber $0{,}85 \cdot 10^{-3}$ g Wasser pro Minute benötigt werden. In 2 Std ist das die Menge des Körpergewichtes der Biene.

Die Regulation der Körpertemperatur muß durch Reduktion der Stoffwechselintensität erfolgen. Entsprechende Beobachtungen sind

wiederholt beschrieben worden. Sie wurden nur in den meisten Fällen falsch interpretiert. PARHON (1909) fand, daß der Sauerstoffverbrauch von etwa 200 in einem Glaszylinder eingeschlossenen Bienen in der in Abb. 18 gezeigten Weise von der Temperatur der durch den Zylinder geblasenen Luft abhängt. Es handelt sich bei der von PARHON gefundenen Gesetzmäßigkeit nicht um die Abhängigkeit des „Ruhestoffwechsels" von der Umgebungstemperatur, wie man fälschlicherweise angenommen hatte, vielmehr ist der Versuch ein Beweis dafür, daß schon kleinere Bienengruppen eine Regulation der Körpertemperatur auf 36° erstreben und diese bei Unterschreiten der Solltemperatur in

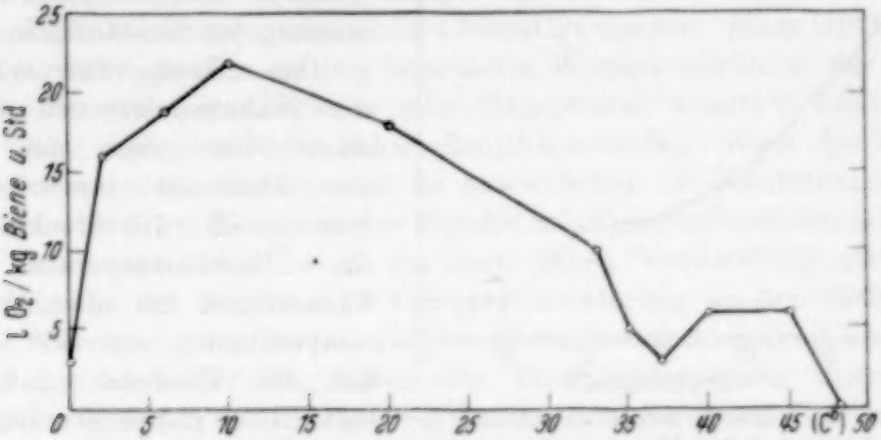

Abb. 18. Der Sauerstoffverbrauch der Biene in Abhängigkeit von der Temperatur (nach PARHON)

ihrer Umgebung erhöhen. Die Abhängigkeit der Stoffwechselintensität von der Temperaturdifferenz des Thorax gegen die Umgebung ist hinreichend beschrieben worden (s. oben) und liegt in einer ganz anderen Größenordnung als der „Ruhestoffwechsel". Neuere Versuche von FREE und BOTH (1958) unterstützen *diese* Auslegung der Parhonschen Versuche eindeutig. Die beiden Autoren untersuchten die Fähigkeit zur Temperaturregelung an kleinen Bienengruppen von 10, 25, 50, 100 und 200 Individuen. Schon 25 Tiere zeigten das Bestreben, die „Traubentemperatur" (sie sammelten sich um ein Quecksilberthermometer) auf 36° zu regulieren. Für alle Völkchen fanden sie in einem 24 Std-Versuch einen Zuckerverbrauch, der auf eine Regulierung der Stoffwechselintensität im oben angegebenen Sinne hinweist (Abb. 19). Auch das Einzeltier ist bestrebt, seine Körpertemperatur so nahe wie möglich an den 36°-Bereich heranzubringen.

Dieses Verhalten zeigen auch die Sammlerinnen bei weiteren Futterplatzentfernungen. Sie können durchschnittlich eine Temperaturdifferenz von 10° zwischen ihrem Thorax und der Umgebung aufrechterhalten. Bei hohen Außentemperaturen ab etwa 25° erreichen sie damit in ihrem

Körper eine Temperatur der offensichtlich angestrebten Temperaturzone. Weiteres Ansteigen der Außentemperatur führt zu einer Reduktion der Stoffwechselintensität, durch welche die Körpertemperatur in der erwünschten Höhe gehalten wird. Die direkte Umgebung des Bienenkörpers unterliegt bei niedrigen Außentemperaturen großen Temperaturschwankungen während des Wechsels zwischen Stock (25—40°) und Umgebung (maximal 30°). Daß diese Temperaturschwankungen bei der niedrigen Wärmekapazität des Bienenkörpers unter niedrigen Außentemperaturen zu Schwankungen der Körpertemperatur zwischen Tanz (im Stock) und Ankunft am Futterplatz führen müssen, ist verständlich.

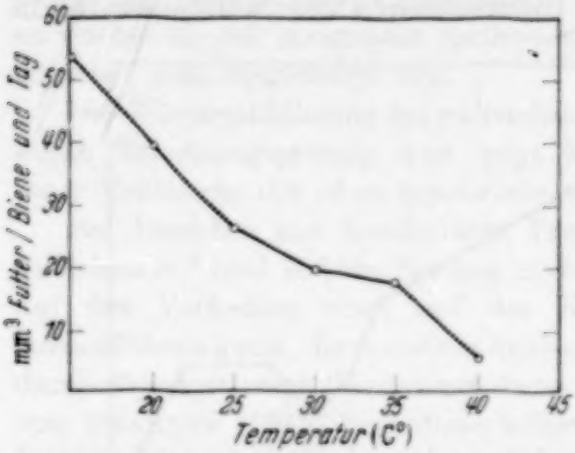

Abb. 19. Der Futterverbrauch von Bienen in Abhängigkeit von der Umgebungstemperatur (nach FREE u. BOTH)

Das Temperaturverhalten der Nahsammlerinnen weicht stark von dem im letzten Abschnitt beschriebenen Schema ab. Im Stock streut die Thoraxtemperatur der Tänzerinnen bei allen Außentemperaturen um 35°. Man hat den Eindruck, daß eine einheitliche Temperaturregelung für den ganzen Sammelzyklus (Stock-Futterplatz-Stock) fehlt. Eine befriedigende Erklärung dafür kann man nach den vorliegenden Untersuchungen noch nicht geben.

b) Brutnestbeheizung. Schon Einzeltiere bemühen sich, unabhängig von der Brutwabe, um Einstellung ihrer Thoraxtemperatur auf einen Wert im Bereich um 36° (PARHON, FREE und BOTH). Die hohe Wärmekapazität der Brutwabe und die große Anzahl von Individuen im Nestbereich führen zu der Temperaturkonstanz, die man in der Wabe findet. Durch ihre räumliche Anordnung (Traube) verstehen es die Einzeltiere, die Wärmeableitung so zu reduzieren, daß eine durchschnittliche Stoffwechselintensität die Aufrechterhaltung der 36° in der Brutwabe erlaubt. Man beobachtet am Einzeltier einen Regelmechanismus (Abb. 7), der in seiner Wirkung dem eines einfachen Thermostaten gleichkommt: Beim Absinken unter eine Grenztemperatur setzt eine Heizreaktion ein, die die Thoraxtemperatur um einige Grade über die Grenztemperatur anhebt. Nach Aussetzen der Heizung folgt ein langsames Absinken auf die Grenztemperatur. Die Bienen legen zwischen Wabe und deren Umgebung eine Schicht mit einer etwas über der Waben-Solltemperatur liegenden Durchschnittstemperatur und verhindern so ein Abfließen der Wabenwärme in die Umgebung.

c) In der Wintertraube. Über die Temperaturverhältnisse im Körper von Einzelbienen in der Wintertraube findet man eine Menge widersprechender Angaben. Übereinstimmung besteht darin, daß die Bienen Temperaturen einhalten, bei denen sie zu aktiver Bewegung fähig sind.

Eine von ARMBRUSTER aufgestellte Wärmetheorie ist auf der Forderung aufgebaut, daß ein Einzeltier bei Erreichen einer „Reiztemperatur" von 13° seine Körpertemperatur erhöht. Er glaubte nämlich, ein regelmäßiges Absinken der Wintertraubentemperatur auf 13° beobachtet zu haben, dem ein Heizsprung mit einer Erhöhung der Traubentemperatur auf 20—30° folgte. Für einen solchen „Heizzyklus" werden nach seinen Angaben etwa 22 Std benötigt. ARMBRUSTERs Ergebnisse konnten von späteren Untersuchern nicht bestätigt werden. HESS (1926) und HIMMER (1927) fanden ein eng begrenztes Wärmezentrum in der Mitte der Traube, das normalerweise seine Temperatur konstant hielt oder aber völlig unregelmäßigen Schwankungen unterlag. Auch die beiden letzten Untersucher bestimmten im wesentlichen die Raumtemperatur zwischen einzelnen Bienen in der Traube mit Quecksilberthermometern oder Thermoelementen, wenn sie auch durch Verwendung mehrerer Meßstellen in der Traube eine Temperaturänderung an den Meßstellen durch Wanderung der Bienen auf der Wabe besser übersehen konnten. Die Frage nach der Regulation der Traubentemperatur durch das Einzeltier konnten sie durch ihre Untersuchungen nicht befriedigend beantworten. HIMMER glaubte die Reize zur Auslösung des Heizvorganges in der Unruhe der „Hautbienen" bei Abkühlung unter eine bestimmte Reiztemperatur zu finden, die sich in die Mitte der Traube fortsetzen und die dort befindlichen Tiere zum Aufheizen veranlassen sollte.

Der Temperaturbereich, in dem sich die Thoraxtemperaturen unserer Versuchstiere befanden, liegt zwischen 20° und 36°, unabhängig von der Außentemperatur. Die relative Aufenthaltsdauer bei den verschiedenen Thoraxtemperaturen zeigt eine Normalverteilung um 29°. Eine Rhythmik in der Heiztätigkeit fehlt völlig. Die Tiere wandern in ganz unregelmäßigen Zeitabständen in der Traube ein und nehmen dort Zucker auf. Erst *nach* Einwandern in die Traube setzt die Heiztätigkeit ein. Der „Kältereiz" ist hier sicher nicht der unmittelbare Auslöser des Heizvorganges. Vielmehr folgt die Aufheizung der Zuckeraufnahme und wird wahrscheinlich durch sie ausgelöst. Nimmt man ein Tier, das man mehrere Stunden am Rand der Traube beobachtet hat, aus dem Stock und füttert es mit Honig, so steigt sofort nach der Honigaufnahme die Thoraxtemperatur stark an.

Bei der Regelung der Temperatur in der Wintertraube handelt es sich um keinen wesentlich anderen Vorgang als bei der Konstanthaltung der Brutnesttemperatur. Der prozentuale Anteil der Bienen, die für

eine Aufrechterhaltung der hohen Temperatur (etwa 36°) sorgen, ist geringer als im Sommer. Außerdem ist das Temperaturgefälle zur Außentemperatur größer. Es wird nur der kleine Wabenbezirk, in dem sich die Bienen mit 36° Körpertemperatur aufhalten, auf dieser Temperatur gehalten.

Die beschriebenen Versuche beziehen sich auf ein Volk im Beobachtungsstock. Es ist durchaus möglich, daß das Verhalten eines Volkes in einer anderen Beuteform davon abweicht.

3. Typ des Wärmehaushaltes der Einzelbiene

Der Wärmehaushalt der Honigbiene wurde von den verschiedenen bisherigen Untersuchern dem homoiothermen, dem poikilothermen oder auch dem heterothermen Typus zugeordnet.

Die Kriterien, die man zur Einordnung in die verschiedenen Kategorien verwendete, waren die der Körpertemperatur, des Stoffwechsels und der Reizbarkeit.

BRÜNNICH (1922) und CIESIELSKI, die die Honigbiene zu den Homoiothermen rechnen wollten, benutzten eine so unzureichende Meß- und Versuchstechnik, daß man ihre Ergebnisse nicht in der von ihnen geübten Weise verwenden kann. Allein bei Benutzung des Kriteriums der Körpertemperatur, die bei den Homoiothermen einen von der Außentemperatur weitgehend unabhängigen, konstanten Wert besitzen muß, kann man feststellen, daß die Biene nicht zu den Homoiothermen gehört: Sowohl im Sommersitz als auch in der Wintertraube paßt sich die Körpertemperatur der Tiere in den Ruhephasen der Umgebungstemperatur an (Abb. 9).

Aber auch die Temperaturmerkmale des poikilothermen Wärmehaushaltes, eine stets der Umgebung angepaßte, nur in Aktivitätsstadien um wenige Grad von der Umgebung differierende Körpertemperatur und fehlende Fähigkeit zur Wärmeregulation, treffen auf die Biene nicht zu: Sie kann ihre Körpertemperatur bei der Sammeltätigkeit, der Brutnestbeheizung, in der Wintertraube und bei Ansammlungen in kleineren Gruppen auf einem konstanten Wert weit über der Umgebungstemperatur halten.

Die Einstufung in den heterothermen Typ des Wärmehaushaltes, die HIMMER auf Grund seiner nicht ganz einwandfreien Temperatur-Meßmethodik nach Stoffwechsel und Reizbarkeit vornahm, war nicht überzeugend, da er nur sehr spärliche Kenntnisse von Stoffwechsel und Reizbarkeit der Honigbiene hatte. Nach den Ergebnissen dieser Untersuchung ist die Einstufung der Bienen in den Typ des heterothermen Wärmehaushaltes durch HIMMER richtig gewesen. Er hat zusammen mit WEINLAND den Begriff der Heterothermie neu gefaßt und gesagt: „Heterotherme sind Tiere, deren Körpertemperatur bedeutenden

Schwankungen unterworfen ist, und die ein Wärmeregulierungsvermögen besitzen, wobei die erzielte Eigentemperatur je nach Umständen und Bedarf verschiedene Höhe haben kann." In dieser Hinsicht gleichen Bienen den Fledermäusen.

Zusammenfassung

Die Körpertemperaturen von Bienen *(Apis mellifica)* wurden an Einzeltieren innerhalb und außerhalb des sozialen Verbandes mit Thermoelementen geringer Wärmekapazität ($2{,}68 \cdot 10^{-6}$ cal·grd^{-1}) und unwesentlicher Wärmeableitung ($3{,}5 \cdot 10^{-7}$ cal·grd^{-1}·sec^{-1}) bestimmt. Bei der Sammeltätigkeit liegt die Thoraxtemperatur der Tänzerinnen außerhalb des Stockes durchschnittlich 10° über der Umgebung. Im Stock hat sie einen etwas höheren Betrag. Bei Erreichen einer Temperaturzone um 36° tritt eine Regulation der Thoraxtemperatur ein, die bewirkt, daß die Thoraxtemperatur bei weiter ansteigender Außentemperatur den Bereich um 36° nicht verläßt.

Der Einfluß der Transpiration auf diese Regelung der Temperatur kann nur gering sein: Nach dem Wasserverlust während des Fluges kann bei einer Temperaturdifferenz von 10° zwischen Thorax und Umgebung durch die Transpiration maximal 8,7% der erzeugten Wärme abgeleitet werden. Eine kutikuläre Transpiration, die das von Wigglesworth (1946) beobachtete Phänomen einer sprungartig erhöhten Transpirationsrate im Bereich um 30° aufweisen könnte, findet nicht statt. Bei Stocküberhitzung zeigt das Einzeltier keine Ansätze zu einer Erniedrigung der Körpertemperatur durch Erhöhung der Transpiration. Die beobachtete Regelung der Körpertemperatur muß im wesentlichen auf eine Reduzierung der Stoffwechselintensität zurückgeführt werden.

Nachläuferinnen im Tanz erhöhen ihre Thoraxtemperatur sehr stark, ähnlich den Tieren bei der Flugvorbereitung.

Bei der Konstanthaltung der Brutnesttemperatur zeigt das Einzeltier das Verhalten eines Thermostaten: Bei Erreichen einer unteren Grenztemperatur von 36° setzt ein Heizvorgang im Thorax ein, der diesen um einige Grad erwärmt. Nach Aussetzen der Heizung sinkt die Thoraxtemperatur langsam auf die Grenztemperatur zurück.

In der Wintertraube herrschten Temperaturen zwischen 20° und 36° im Thorax der gemessenen Tiere. Auslösung des Heizvorganges im Einzeltier durch einen Kältereiz und rhythmisches Aufheizen der ganzen Wintertraube konnten nicht beobachtet werden. Anlaß der Heiztätigkeit war die Futteraufnahme im Inneren der Traube. Die relative Aufenthaltsdauer mehrerer Bienen ergab bei einer Mittelung über 146 Std eine Normalverteilung um 28—29°. Wenn man von der relativen Aufenthaltsdauer auf die Zahl der Bienen bei den einzelnen Temperaturen schließt, muß das Wärmezentrum in der Wintertraube klein sein.

Auch außerhalb des Stockes können einzelne Bienen (wenn ihnen genügend Futter zur Verfügung steht) größere Temperaturdifferenzen gegen die Umgebung aufrechterhalten.

Die Wärmeabgabe des Thorax einer in Ruhe befindlichen Biene an die Umgebung liegt bei Temperaturdifferenzen von 0—20° zwischen Thorax und Umgebung im Bereich von 0—0,6 cal · min^{-1}. Die Wärmekapazität des Tieres ist außerordentlich klein; man kann daher aus der Körpertemperatur auf die Stoffwechselintensität schließen.

Die Heizquelle liegt in allen Fällen im Thorax. Die Aktionspotentiale, die man aus der Thoraxmuskulatur ableiten kann, zeigen nur in Heizperioden eine Impulsfolge in Höhe der Flugfrequenz.

Der Wärmehaushalt des Einzeltieres kann als heterotherm bezeichnet werden.

Literatur

ARMBRUSTER, L.: Über den Wärmehaushalt im Bienenstaat. Arch. Bienenk. **4** (1922).

BACHMETJEW, P.: Über die Temperatur der Insekten nach Beobachtungen in Bulgarien. Z. wiss. Zool. **66** (1899).

BAILEY, L.: The respiratory movements in the tracheal system of the adult honeybee. J. exp. Biol. **21** (1945).

BEAMENT, J. W. L.: The cuticular lipoids of insects. J. exp. Biol. **21** (1945).

BEUTLER, R.: Über den Blutzucker der Bienen. Z. vergl. Physiol. **24** (1936).

BOCH, R.: Die Tänze der Bienen bei nahen und fernen Trachtquellen. Z. vergl. Physiol. **38** (1956).

BRÜNNICH, K.: Von der Innenwärme des Bienenleibes. Arch. Bienenk. **4** (1922).

BURKHARDT, D.: Rhythmische Erregungen in den optischen Zentren von Calliphora erythrocephala. Z. vergl. Physiol. **36** (1954).

CIESIELSKY, TH.: Zit. nach BRÜNNICH 1922.

EDER, R.: Die kutikuläre Transpiration der Insekten. Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. **60** (1940).

FREE, J. B., and Y. BOTH: Observations on the temperature regulation and food-consumption of honeybee. J. exp. Biol. **35** (1958).

FRISCH, K. v.: Die Tänze der Bienen. Öst. Zool. Z. **1** (1946).

GATES, V.: The temperature of the bee-colony. Bull. U.S. Dep. Agric. **96** (1914).

HAUSMANN, J.: De animalium exsanguinum respiratione commentationis. Goettingiae 1803. Zit. nach BACHMETJEW 1899.

HERAN, H.: Ein Beitrag zur Frage nach der Wahrnehmungsgrundlage der Entfernungsweisung im Tanz der Bienen. Z. vergl. Physiol. **38** (1956).

HESS, W. R.: Die Temperaturregelung im Bienenvolk. Z. vergl. Physiol. **4** (1926).

HIMMER, A.: Ein Beitrag zur Kenntnis des Wärmehaushaltes im Nestbau sozialer Hautflügler. Z. vergl. Physiol. **5** (1927).

HIMMER, A.: Über die Wärme im Hornissennest. Z. vergl. Physiol. **13** (1931).

HIMMER, A.: Die Nestwärme bei Bombus agrorum F. Biol. Zbl. **53** (1933).

JONGBLOED, I., u. C. A. WIERSMA: Stoffwechsel der Honigbiene während des Fluges. Z. vergl. Physiol. **21** (1935).

KROGH, A.: Determination of temperature and heat production in insects. Z. vergl. Physiol. **31** (1948)

LINDAUER, M.: Die Temperaturregulierung der Biene bei Stocküberhitzung. Naturwissenschaften **38** (1951).

LINDAUER, M.: Ein Beitrag zur Frage der Arbeitsteilung im Bienenstaat. Z. vergl. Physiol. **34** (1952).

LINDAUER, M.: Temperaturregelung und Wärmehaushalt im Bienenstaat. Z. vergl. Physiol. **36** (1954).

MATHIS, F.: Mise en évidence dans une colonie d'abeilles d'un centre thermique autoregulateur. Ann. Sci. natur. Zool. **14** (1952).

PARHON, M.: Stoffwechsel der Honigbiene in Beziehung zur Temperatur. Ann. Sci. natur. Zool. **9**, 9 (1909).

PHILLIPS, E. F., and G. S. DEMUTH: The temperature of the honeybee-cluster in winter. Bull. U.S. Dep. Agric. **93** (1914).

PRECHT, H., J. CHRISTOPHERSEN u. H. HENSEL: Temperatur und Leben. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955.

ROEDER, K. D.: Insect Physiology. New York: John Wiley & sons, Inc. 1953.

SNODGRAS, L.: The anatomy of the honeybee. Ithaca, N.Y.: Comstok Publishing Associates, Cornell University Press 1956.

SOTAVALTA, O.: On the thoracic temperature of insects in flight. Ann. Soc. Zool. Vanamo **16** [1] (1954).

WIGGLESWORTH, V. B.: Water relations of insects. Experientia (Basel) **2**, Nr 6 (1946).

WOHLGEMUT, R.: Die Temperaturregulierung des Bienenvolkes unter regeltheoretischen Gesichtspunkten. Z. vergl. Physiol. **40** (1957).

Dr. H. ESCH,
Zoologisches Institut der Universität, München 2, Luisenstraße 14

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 43, 336—340 (1960)

Aus dem Laboratorium für Tierphysiologie an der Philosophischen Fakultät der Universität in Sarajevo (Jugoslawien)

SENKUNGSGESCHWINDIGKEIT DER ERYTHROZYTEN BEI EINIGEN ARTEN VON REPTILIEN NORDDALMATIENS

Von

VOJISLAV PAVLOVIĆ

(Eingegangen am 22. März 1960)

Außer einigen unvollkommenen Angaben, die G. SANDOR (1926) über die Erythrozyten beim Karpfen, bei der Ringelnatter, beim Frosch und beim Salamander aufführt, sowie außer unseren Angaben über die Senkungsgeschwindigkeit der Erythrozyten einiger Fischarten des Adriatischen Meeres (V. PAVLOVIĆ 1958a), sind Angaben über die Blutkörperchensenkung der poikilothermen Wirbeltiere in der Literatur der Vergleichenden Physiologie der Tiere schwer zu finden.

In der Absicht, zur näheren Kenntnis dieses Bereichs der Vergleichenden Physiologie der Wirbeltiere etwas beizutragen, wollen wir die Resultate unserer weiteren Forschungen über die Senkungsgeschwindigkeit der Erythrozyten auseinandersetzen, die wir diesmal bei einer bestimmten Zahl von Reptilienarten in Norddalmatien (Jugoslawien) aufzeichneten.

Die Tiere und die experimentelle Technik

Wir unternahmen Versuche an 10 Arten von Reptilien der Unterklassen: *Chelonia* und *Lepidosauria*, die das Gebiet zwischen der jugoslawischen Küste des Adriatischen Meeres und südlichen Abhängen des Dinargebirges bewohnen.

Beim Sammeln und Aufbewahren der Reptilien halfen uns die Mitglieder der Bauerngenossenschaft aus Bokanjac, besonders durch ihre großen Erfahrungen in der Unterscheidung und dem Einfangen von Schlangen. Später, bei der Arbeit des genauen Systematisierens der Arten, leistete uns der bekannte jugoslawische Herpetologe Herr Dr. MILUTIN RADOVANOVIĆ, Professor an der Universität von Belgrad, wertvolle Hilfe.

Die Experimente wurden im Laufe der zweiten Hälfte des Monats Juli durchgeführt. Die Temperatur der Luft variierte zu dieser Zeit in Bokanjac zwischen 22 und 28° C. Die gefangenen Reptilien wurden höchstens 10—14 Tage in einem eigens dazu erbauten Raume gehalten, insofern sie nicht sofort den an ihnen durchzuführenden Experimenten unterzogen wurden. Die Temperatur dieses Raumes schwankte zwischen 20 und 22° C. Während dieser Zeit hatten die Tiere sowohl Futter als auch Wasser zur Verfügung.

Die Experimente wurden immer zur gleichen Tageszeit ausgeführt, gegen 9 Uhr vormittags. Das Blut wurde dort, wo es möglich war, durch Herzpunktierung entnommen (bei der Schildkröte und der Schlange *Coluber quatorlineatus*), sonst wurde es durch schnelle Dekapitierung gewonnen. Gegen die Koagulation wurde

eine 4%ige Na-Zitrat-Lösung angewendet und das Blut damit im Verhältnis 1:4 vermischt. Das Blut wurde längstens 45 min in den sterilen Epruvetten gehalten, bevor es in den Apparat zur Sedimentation gelangte (C. Benezech u. Mitarb. 1956).

Die Sedimentation wurde durch die Methode Westergrens bestimmt, mittels eines Apparates unserer Konstruktion (V. Pavlović 1958a). Unser Apparat ist so konstruiert, daß man damit eine möglichst vertikale Lage der mit Blut gefüllten Pipetten erreichen kann, ungeachtet des Niveaus der Unterlage, auf die der Apparat gestellt wird. Die Vertikalität der Pipetten ist aber einer der technischen Grundfaktoren für die Genauigkeit des Experimentes (C. Maia 1930, J. Morrisson 1941).

Die Resultate wurden nach 1, 2, 4, 6, 12 und 24 Std Sedimentation aufgezeichnet. Die Temperatur des Raumes, in dem die Sedimentationsbestimmung vorgenommen wurde, schwankte zwischen 22 und 26° C.

Die Herzpunktierung bzw. die Dekapitierung der Schlangen und der anderen Reptilien wurde ohne irgendwelche vorausgehende Narkose der Tiere durchgeführt.

Resultate und Betrachtungen

Die Resultate dieser Experimente sind in der Tabelle dargestellt.

Wie aus dieser Tabelle ersichtlich ist, zeigt das Blut der Vertreter der Ordnung *Sauria*, aus der Subklasse *Lepidosauria*, allgemein genommen, die langsamste Sedimentation der Erythrozyten. Sie beträgt im Durchschnitt für zwei vertretene Arten — *Lacerta viridis* aus der Familie Lacertidae, und *Ophisaurus apodus* aus der Familie Anguidae — nach der 1. Std 2,9 mm (in den Grenzen 2,6—3,2 mm), nach der 2. Std 7,1 mm (in den Grenzen 6,6—7,6 mm) und nach der 24. Std der Sedimentation 89,7 mm (in den Grenzen 72,0—106,5 mm).

Die Grenze zwischen den Erythrozyten und dem Plasma war immer scharf ausgeprägt. Nach der 24. Std der Sedimentation zeigte sich über dem Niveau der Erythrozyten eine 3—5 mm hohe Schicht angehäufter Leukozyten.

Eine etwas raschere Senkungsgeschwindigkeit der Erythrozyten zeigt das Blut der Schildkröte — *Testudo hermanni* — schon von der 1. Std der Sedimentation an. *Testudo hermanni* war in diesen Versuchen der einzige Vertreter der Unterklasse *Chelonia*. Die Werte der Erythrozytensenkung bei dieser Art von Schildkröten sind: nach der 1. Std 5,0 mm, nach der 2. Std 12,1 mm und nach der 24. Std der Sedimentation 114,6 mm.

Die Grenze zwischen den Erythrozyten und dem Plasma nach der 12. wie auch nach der 6. Std der Sedimentation war nicht scharf gekennzeichnet. Diese Tatsache ist auf der Tabelle durch ein Sternchen angezeichnet.

Die Säule der aufgehäuften Leukozyten, die in allen Versuchen nach der 24. Std der Erythrozytensenkung am besten erkennbar ist, besaß im Durchschnitt eine Höhe von etwa 5—7 mm.

Die größte Senkungsgeschwindigkeit zeigen die Vertreter der Ordnung *Ophidia*, aus der Unterklasse *Lepidosauria*. Diese Ordnung ist in unseren Versuchen, wie aus Tabelle 1 ersichtlich ist, durch 6 Schlangenarten der Familie Colubridae und eine Art — *Vipera ammodytes* — aus

der Familie Viperidae vertreten. Die Werte der Erythrozytensenkungsgeschwindigkeit sind: nach der 1. Std 3,6—6,0 mm (im Durchschnitt 4,5 mm), nach der 2. Std 7,5—13,2 mm (im Durchschnitt 14,6 mm) und nach der 24. Senkungsstunde 106,0—146,0 mm (im Durchschnitt 126,7 mm).

Die Grenze zwischen den Erythrozyten und dem Plasma ist auch bei den Vertretern dieser Ordnung, gerade wie bei der Schildkröte, nach der 12., sowie nach der 6. Sedimentationsstunde ziemlich undeutlich. Diese Erscheinung bezeichneten wir in der Tabelle durch ein Sternchen. Die Säule der Leukozyten prägte sich auch hier nach der 24. Std der Sedimentation deutlich aus und beträgt 3—7 mm Höhe, manchmal sogar mehr.

Wie aus dieser Übersicht zu ersehen ist, ist die Erythrozytensenkung bei den Reptilien ausgesprochen schnell. Die Erythrozytensenkungsgeschwindigkeit der Reptilienarten aus dem Gebiet von Norddalmatien ist 2- oder 3mal größer als bei den Adriatischen Fischen der Familie *Scombridae* und *Mugilidae*. Die Senkungsgeschwindigkeit der Erythrozyten der Reptilien ist ferner um $^1/_3$ größer als die Senkungsgeschwindigkeit von Vögeln (z. B. Hähne, Gänseriche). Auch die Sedimentation der Säugetier-Erythrozyten bleibt hinter der der Reptilien weit zurück.

Es scheint ein Parallelismus zwischen unausgeprägter Grenze der Erythrozytensäule und der Senkungsgeschwindigkeit derselben Erythrozyten zu bestehen.

Diesen Parallelismus fanden wir nicht nur bei den Reptilien.

So konnten wir in unseren früheren Versuchen an Fischen, deren Erythrozytensenkung nach 24stündiger Sedimentation nur 24—46 mm betrug, in keinem Falle eine undeutlich ausgeprägte Grenze bemerken. Ebensowenig konnten wir das bei den Zieselmäusen *(Citellus citellus)*, bei denen die Erythrozytensenkung im Laufe des Sommers nach 24 Std nur 5 mm beträgt (V. PAVLOVIĆ 1959c). Bei den Vögeln dagegen, deren Sedimentation nach 24 Std 100 mm übersteigt, wie z. B. bei den Hähnen (V. PAVLOVIĆ 1957b) kommt es ebenfalls nach 6- und 12stündiger Sedimentation zu einer undeutlichen Grenze.

Die Erklärung der Unterschiede in der Senkungsgeschwindigkeit der untersuchten Reptilien setzt eine genaue Kenntnis der Menge und der elektrischen Ladung der Plasma-Eiweißkörper voraus. Denn es ist allgemein anerkannt, daß die Menge und die elektrische Ladung der Plasma-Eiweißkörper, die von den Erythrozyten absorbiert sind, die Agglutination der Erythrozyten und damit ihre Senkungsgeschwindigkeit beherrscht. Unsere Beobachtung über die Artspezifität der Senkungsgeschwindigkeit zeigt, daß die Menge der einzelnen Plasma-Eiweißkörper oder ihre elektrische Ladung oder beides von einer Reptilienart zur andern so verschieden sind, daß eine Eiweißanalyse der verschiedenen Reptilienarten charakteristische Unterschiede aufdecken dürfte.

Tabelle. *Senkungsgeschwindigkeit der Erythrozyten bei einigen Arten von Reptilien Norddalmatiens.* (Vergleichende Übersicht)

Art	Zahl der Individuen	Länge der Tiere in cm	Die Erythrozytensenkung in mm, bei Außentemperatur von 22—26° C, nach					
			1 Std	2 Std	4 Std	6 Std	12 Std	24 Std
Testudo Hermanni Gmelin	8	(540—620g)	5,0 ** ±0,38	12,1 ±0,87	22,0 ±1,88	48,3* —	96,7* —	114,6 ±6,01
Lacerta viridis Laurenti . . .	6	35—40	3,2 ±0,30	7,6 ±0,39	16,4 ±1,29	25,0 ±2,21	45,3 ±5,24	72,0 ±6,15
Ophisaurus apodus Pallas	8	60—90	2,6 ±0,02	6,6 ±0,15	17,5 ±1,28	25,3 ±1,90	55,0 ±3,99	106,0 ±4,70
Coluber longissimus Laurenti . . .	8	100—110	3,7 ±0,03	8,7 ±0,24	21,8 ±1,63	35,7* —	75,1* —	106,0 ±4,00
Coluber quatorlineatus Lacépède	4	130—155	4,2 ±0,33	10,6 ±1,00	26,0 ±2,38	37,8* —	80,0* —	129,7 ±5,66
Zamenis gemonensis Laurenti . . .	3	80—100	3,6 ±0,11	7,5 ±0,29	17,1 ±1,16	27,6 —	61,0 —	108,7 ±2,73
Zamenis dahlii Fittzinger. . .	6	80—100	6,0 ±0,33	13,2 ±0,72	31,5 —	47,5* —	99,0* —	146,0 ±8,98
Malpolon Monspessulanus Hermann	2	80—100	4,2 ±0,4	9,2 ±1,24	20,5 ±2,5	30,0* —	87,2* —	113,0 ±1,00
Tarbophis fallax Fleischmann. .	6	50—65	5,0 ±0,25	12,0 ±0,20	30,0* —	47,7* —	98,0* —	139,5 ±5,33
Vipera ammodytes Linée	7	45—65	4,7 ±0,35	12,0 ±0,79	30,6* —	49,2* —	109,0* —	144,0 ±5,01

* Die Grenzen zwischen den gesetzten Erythrozyten und dem Plasma ist nicht scharf ausgeprägt.

** Fehler der Mittelwerte errechnet nach der Formel: $\sigma_s = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n\,(n-1)}}$.

Zusammenfassung

Es wurde die Senkungsgeschwindigkeit der Erythrozyten bei 10 Arten von Reptilien Norddalmatiens zwischen der jugoslawischen Küste des Adriatischen Meeres und den Südabhängen des Dinargebirges erforscht. Die erforschten Arten gehören den Subklassen *Chelonia* und *Lepidosauria* an.

Die langsamste Erythrozytensenkung unter den der Untersuchung unterzogenen Reptilien zeigen die Vertreter der Ordnung *Sauria* aus der Subklasse *Lepidosauria (Lacerta viridis* und *Ophisaurus apodus)*.

Eine etwas größere Erythrozytensenkungsgeschwindigkeit, besonders in den späteren Stunden, zeigt die Schildkröte — *Testudo Hermanni*.

Die Vertreter der Ordnung *Ophidia* aus der Subklasse *Lepidosauria* (7 Schlangenarten aus den Familien *Colubridae* und *Viperidae*) zeigen eine größere Senkungsgeschwindigkeit der Erythrozyten als die übrigen Reptilienarten.

Literatur

Bénézech, C., P. Cazotte, J. Llory et B. Magnan de Bornier: Rol del la viscosité dans la sédimentation globulaire. C. R. Soc. Biol. (Paris) **150**, 776 (1956).

Maia, C.: Causes d'erreur dans la determination de la vitesse de sédimentation du sang. C.R. Soc. Biol. (Paris) **103**, 838 (1930).

Morrison, J. R.: Observations on blood sedimentation mechanism. Amer. J. clin. Path. **11**, 578 (1941).

Pavlović, V.: Erythrozytensenkungsgeschwindigkeit, Zahl der Erythrozyten und Konzentration des Hämoglobins bei Hahn und Ente. Manuskript. 1957b.

Pavlović, V.: Senkungsgeschwindigkeit der Erythrozyten bei einigen Fischarten des Adriatischen Meeres. Z. vergl. Physiol. **41**, 267 (1959a).

Pavlović, V.: Erythrozytensenkungsgeschwindigkeit, Zahl der Erythrozyten und Konzentration des Hämoglobins in Citellus citellus während der Winter- und Sommerperiode. Proceedings for Natural Sciences. 17. Matica Srpska, Novi Sad, Jugoslavien. 1959c.

Radovanović, M.: Amphibien und Reptilien Jugoslaviens. Naučna Knjiga. Belgrad 1951.

Sandor, G.: Über die Senkungsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen von Kaltblütern. Pflügers Arch. ges. Physiol. **213**, 834 (1926).

Doz. Dr. Vojislav Pavlović, Sarajevo, Krajiska 4/I, Jugoslawien

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 43, 341—358 (1960)

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut und dem Zoologischen Institut
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ZUM TRYPTOPHANSTOFFWECHSEL IN LEBERZELLFRAKTIONEN BEI WIRBELTIEREN

Von

HELGA KUNTE*

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 26. März 1960)

Einleitung

Der Tryptophanstoffwechsel im tierischen Organismus ist bisher ausschließlich am Säugetier studiert worden. Aus anderen Tiergruppen liegen nur für die Insekten Angaben über das Auftreten einiger Intermediärprodukte des Tryptophanstoffwechsels, im Zusammenhang mit der genabhängigen Pigmentbildung, vor. In der vorliegenden Arbeit sollte der Tryptophanabbau in vitro bei Vertretern verschiedener Vertebratenklassen, insbesondere der Vögel und der Poikilothermen, untersucht werden, um festzustellen, ob mit der Entwicklungshöhe der Tiere oder auf Grund der verschiedenen Lebensbedingungen qualitativ oder quantitativ verschiedene Leistungen auftreten, oder ob dem vom Säuger bekannten Mechanismus allgemeine Bedeutung innerhalb des Stammes der Vertebraten zukommt.

Von den Vögeln wurden *Gallus bankiva domest.* (Haushahn) und *Columba livia* L. *domest.* (Taube), von den Amphibien *Rana temporaria* L. (Grasfrosch) und von den Fischen die Art *Leuciscus rutilus* L. untersucht. Von den Säugetieren wurden domestizierte Ratten und Kaninchen (*Mus rattus* L. *domest.* und *Oryctolagus cuniculus* L. *domest.*) zum Vergleich herangezogen. Wenn im folgenden meist einfach von Fisch, Taube usw. gesprochen wird, so sind immer die genannten Arten darunter zu verstehen.

Bei den bisher untersuchten Tieren hatte sich die Leber als wichtigster Ort des Tryptophanabbaus erwiesen. Da dieses Organ bei allen Wirbeltieren die gleichen Funktionen erfüllt, konnte man annehmen, daß dies auch im Hinblick auf den Tryptophanstoffwechsel der Fall ist. Die Untersuchungen wurden daher an Leberpräparaten durchgeführt. Im einzelnen wurden der Arbeit folgende Fragestellungen zugrunde gelegt:

* D 77.

1. findet eine oxydative Desaminierung zu Indolbrenztraubensäure und Ammoniak statt,

2. findet eine Kynureninbildung statt,

3. wird Kynurenin weiter zu Kynurensäure und Anthranilsäure abgebaut,

4. sind noch andere Abbaumechanismen vorhanden.

Da es sich im Laufe der Arbeit ergab, daß der Abbauweg über Kynurenin zu Anthranilsäure oder Kynurensäure bei allen untersuchten Tieren der weitaus bedeutendste Abbaumechanismus für Tryptophan ist, wurden die entsprechenden Fermente: Tryptophan-Peroxydase, Kynureninase und Kynurenin-Transaminase im Hinblick auf ihre Verteilung innerhalb der Zellfraktionen und auf ihre Aktivität im Leberhomogenat und in den Fraktionen einer vergleichenden Untersuchung unterzogen. Die Frage 1, ob eine oxydative Desaminierung des Tryptophans stattfindet, wurde deshalb in die Untersuchungen einbezogen, weil in einigen Fällen eine solche Reaktion beschrieben worden ist (KREBS 1933, EDLBACHER u. WISS 1944, BORGHI 1940, STRUCK u. SIZER 1957).

Da die Aktivität des Tryptophan-Peroxydase-Systems nach Tryptophangabe stark ansteigt (KNOX u. MEHLER 1951, KNOX 1951, LEE, KILE u. OLDHAM 1956), wurden einige Fütterungsversuche mit Ratten durchgeführt, um festzustellen, wieweit der Tryptophangehalt des Futters, insbesondere bei einer tryptophanarmen Diät, eine Rolle spielt. Diese Untersuchungen konnten auch für die vergleichende Betrachtung der übrigen Ergebnisse von Wert sein, da es sich um Tiere mit unterschiedlicher Ernährungsweise und in verschiedenem Ernährungszustand handelte.

Die Enzymaktivitäten wurden durch Messung der entstandenen Reaktionsprodukte bestimmt. Gleichzeitig wurden Substratschwundbestimmungen durchgeführt, die zusammen mit der Papierchromatographie Aufschluß über eventuelle andere Abbauwege geben sollten.

Material und Methoden

1. Tiermaterial. *Ratten (Mus rattus* L. *domest.).* Die für die Routineversuche verwendeten Ratten waren Tiere von 120—300 g Gewicht, von verschiedenen Bezugsquellen, und daher in Rasse, Alter und Aufzucht nicht einheitlich. Für den Fütterungsversuch wurden weiße männliche Ratten einheitlicher Aufzucht genommen, die zwischen 190 und 210 g wogen. Sie wurden für die Dauer des Versuches in Einzelkäfigen gehalten und erhielten eine Woche lang folgendes Futter: Gruppe A Maismehl; Gruppe B Maismehl + 1% Tryptophan; Gruppe C 90% Maismehl + 10% Casein; Gruppe D 89% Maismehl + 10% Casein + 1% Tryptophan. Die tägliche Futtermenge betrug 15 g. Die *Kaninchen (Oryctolagus cuniculus* L. *domest.)* waren männliche Tiere zwischen 2500 und 3500 g. Die *Hähne (Gallus bankiva domest.)* waren junge Tiere verschiedener Rassen von 250—700 g

aus einer hiesigen Geflügelhandlung. In einem Falle wurde für Vergleichszwecke ein ausgewachsenes Tier verwendet. Die *Tauben (Columba livia L)*. stammten aus der gleichen Bezugsquelle und wogen zwischen 250 und 300 g. Die *Frösche* waren männliche Tiere der Art *Rana temporaria* L. aus einer Tierhandlung in Himberg bei Honnef a. Rh. Sie wurden in einem kühlen Raum gehalten und nicht gefüttert. Die Versuche wurden in den Monaten August bis November durchgeführt. Die *Fische*, Art *Leuciscus rutilus* L., waren im Rhein gefangen worden und wurden bis zu einer Woche im Frischwasserbecken ebenfalls ohne Futter gehalten. Die Versuche mit diesen Tieren liefen von Dezember bis Anfang April.

2. Chemikalien. L-Tryptophan, D,L-Tryptophan (für die Fütterungsversuche), D,L-Kynurenin (für Eichzwecke), Kynurensäure, Natrium-Pyruvat und Pyridoxal-5-phosphat wurden von der Firma Hoffman-La Roche zur Verfügung gestellt. L-Kynureninsulfat wurde von Mann Research Laboratories, New York, bezogen. Beim Ansetzen der Lösung wurde das Sulfat mit der stöchiometrischen Menge an Bariumhydroxyd gefällt und der Niederschlag abzentrifugiert. Anthranilsäure stammte von der Firma Merck, Darmstadt, α-Ketoglutarsäure von Böhringer & Söhne, Mannheim, ATP (= Adenosintriphosphat), als Natriumsalz, von der Zellstoffabrik Waldhof, Mannheim, Cytochrom c von der Firma Mack, Illertissen, TRIS (= Trisoxymethylaminomethan) von Serva-Entwicklungslabor, Heidelberg.

3. Methoden. *a) Gewinnung der Zellfraktionen.* Ratten und Kaninchen wurden durch Kopfschlag, alle übrigen Tiere durch Dekapitieren getötet, ausgeblutet, die Lebern sofort entnommen, gewogen und im Kühlraum unter zusätzlicher Eiskühlung weiterverarbeitet. Zur Herstellung von Homogenat wurde die Leber mit dem doppelten Gewicht an 0,9%iger Kaliumchloridlösung im Glashomogenisator nach Potter und Elvehjem homogenisiert und durch Perlongewebe filtriert. Die Fraktionierung wurde in Anlehnung an die Methode von Schneider (1948) in der folgenden Weise durchgeführt: Für die Cytoplasmagewinnung wurde Homogenat wie oben beschrieben hergestellt, zunächst 10 min bei 18000 g und das Überstehende 30 min bei 140000 g auf der Spinco-Ultrazentrifuge zentrifugiert. Man erhält eine klare, rötlich gefärbte Flüssigkeit. Als Cyclophorasesystem (Green, Loomis u. Auerbach 1948) wurde das nach dem ersten Zentrifugieren erhaltene Sediment verwendet, das 2mal durch Resuspension in der KCl-Lösung und anschließendes Abzentrifugieren gewaschen wurde. Es enthält die Mitochondrien, vermengt mit Kernsubstanz und Erythrocyten, gelegentlich auch Zelltrümmer. Für die Gewinnung der Partikel: Kerne, Mitochondrien und Mikrosomen, wurde mit einer gepufferten Rohrzuckerlösung, 0,25 m an Rohrzucker in 0,02 m Tris-HCl-Puffer p_H 7,4 gearbeitet. Die Leber wurde zunächst mit dem doppelten Gewicht an Rohrzuckerlösung homogenisiert, filtriert, und dann pro Gramm Leber auf 8 ml aufgefüllt. Dieses Homogenat wurde 5 min bei 800 g zentrifugiert und das Sediment, das die Kerne enthält, 2mal mit der Rohrzuckerlösung durch Resuspension und Abzentrifugieren gewaschen, wobei die Flüssigkeitsmenge jedesmal auf die Hälfte reduziert wurde. Durch 8 min langes Zentrifugieren des Überstehenden aus dem vorhergehenden Arbeitsgang bei 18000 g wurden die Mitochondrien sedimentiert, die gleichfalls 2mal gewaschen wurden. Das Überstehende wurde nun noch 30 min auf der Spinco-Ultrazentrifuge bei 140000 g zentrifugiert, wobei die Mikrosomen als gelbliches Gel sedimentieren. Diese wurden nur durch Abspülen mit eiskalter Rohrzucker- oder KCl-Lösung gewaschen.

Für die Versuche wurden Cyclophorasesystem und Kernfraktion in 0,9%iger KCl-Lösung oder 0,1molarem Tris-Puffer p_H 7,4 suspendiert, Mitochondrien und Mikrosomen in einem Medium, das auf der Grundlage der Untersuchungen an Mitochondrien von Hunter u. Ford (1955) wie folgt zusammengesetzt war: KCl

0,080 m; $MgSO_4$ 0,020 m; KH_2PO_4 0,052 m; Tris-Puffer p_H 7,4 0,1 m; ATP 0,0052 m; Cytochrom c 0,03 Mikromol/ml. Die Flüssigkeitsmenge wurde so gewählt, daß 1 ml der Suspension 1 g Leber (Frischgewicht) entsprach.

b) Versuchsansätze. Die Versuchsbedingungen wurden in Anlehnung an die von früheren Autoren verwendeten gewählt. Als Puffersystem diente Tris-HCl-Puffer, der gegenüber dem sonst meist verwendeten Phosphatpuffer keine Beeinträchtigung der Enzymleistungen ergab.

Die Ansätze für die Bestimmung der Tryptophan-Peroxydase-Aktivität enthielten: 1,0 ml 0,1 m Tris-HCl-Puffer p_H 7,4; 0,5 ml 0,01 m Tryptophan; 0,5 bis 1,5 ml Homogenat bzw. Zellfraktion, entsprechend 0,33—0,50 g Leber; H_2O ad 3 ml; Leerwerte ohne Tryptophan.

Für die Bestimmung der Kynureninase und der Kynurenin-Transaminase wurden die gleichen Versuchsansätze verwendet, nur enthielten die für die Transaminase zusätzlich eine Ketosäure. Die Zusammensetzung war die folgende: 1,0 ml 0,1 m Tris-HCl-Puffer p_H 8,0; 0,5 ml 0,005 m Kynurenin; für die Transaminierungsreaktion 0,5 ml 0,005 m α-Ketoglutarsäure oder Pyruvat; 0,5—1,5 ml Homogenat bzw. Zellfraktion, entsprechend 0,33—0,50 g Leber; H_2O ad 3,0 ml; dem Puffer wurden katalytische Mengen Pyridoxalphosphat zugesetzt.

Bei den Tryptophanansätzen wurde in den meisten Fällen in der Warburg-Apparatur gleichzeitig auch der Sauerstoffverbrauch bestimmt, alle anderen Ansätze wurden in weiten Reagensgläsern in einer Schütteleinrichtung bei einer Temperatur von 37° C inkubiert. Die Zeit betrug in allen Fällen 3 Std.

c) Tryptophanbestimmung. Es wurden 3 Methoden geprüft: In einigen Fällen wurde das Tryptophan papierchromatographisch abgetrennt, eluiert und die Absorption im UV-Licht gemessen. Zweitens wurde die Glyoxylsäuremethode nach SHAW u. MCFARLANE (1938) angewendet und schließlich wurde die Absorption des Filtrates bei 280 mμ zur Tryptophanbestimmung herangezogen. Die letztere Methode wurde für die meisten Versuche beibehalten. Dazu wurde in folgender Weise verfahren: Es wurden jeweils 0,2 ml vom Versuchsansatz vor und nach der Inkubation mit 5 ml 4%iger Trichloressigsäure enteiweißt und die Absorption des Filtrates bei 280 mμ am Zeiss-Spektralphotometer gemessen. Kynurenin, Kynurensäure und Anthranilsäure in den auftretenden Mengen stören dabei nicht.

d) Kynureninbestimmung. Kynurenin wurde durch seine Absorption bei 366 mμ bestimmt (MEHLER u. KNOX 1950, KNOX 1953). Bei den Versuchen mit Kynurenin als Substrat wurden für die Bestimmung des Substratschwundes jeweils 0,3 ml vom Ansatz vor und nach der Inkubation mit 5 ml Aceton enteiweißt und das Filtrat am Photometer „Eppendorf" mit Filter Hg 366 gemessen. Für die Feststellung der Kynureninbildung aus Tryptophan wurden 0,5 ml des Ansatzes mit 4 ml Aceton enteiweißt und in gleicher Weise gemessen. Die Eichkurve verläuft linear von 2—30 γ/ml, wobei unter diesen Bedingungen einer Konzentration von 0,1 Mikromol/ml eine Extinktion von 0,39 entspricht. Zugesetztes Kynurenin wurde zu 98—102% wiedergefunden. Von den auftretenden Stoffwechselprodukten stört nur Anthranilsäure, wenn sie in größerer Konzentration auftritt. Wo dies der Fall war, wurden die Werte entsprechend korrigiert. Außerdem wurde durch Papierchromatographie kontrolliert, daß es sich bei den gemessenen Werten tatsächlich um Kynurenin handelt.

e) Kynurensäurebestimmung. Die Kynurensäure wurde für die Bestimmung papierchromatographisch abgetrennt. Dazu wurden 1 ml vom Ansatz mit 2 ml Aceton enteiweißt, vom Filtrat 0,2 ml aufgetragen und aufsteigend mit Methanol-n-Butanol-Benzol-Wasser-Gemisch (2:1:1:1) (MASON u. BERG 1951) chromatographiert. Die Chromatogramme wurden bei Zimmertemperatur getrocknet. Die

Kynurensäureflecken wurden unter der UV-Lampe lokalisiert, ausgeschnitten, mit 4 ml 0,01 n Natronlauge 1 Std bei Zimmertemperatur eluiert und am Zeiss-Spektralphotometer bei 244 mμ gemessen. Bei dieser Wellenlänge hat die Kynurensäure eine genügend hohe Absorption, so daß auch noch sehr kleine Mengen gemessen werden können. Die Eichkurve zeigt einen linearen Verlauf von 0,25 bis 4 γ/ml. Zugesetzte Kynurensäure wurde zu 91—95% wiedergefunden. In jedem Chromatogramm wurden außerdem Kynurensäure-Testmengen mitlaufen gelassen.

f) Anthranilsäurebestimmung. Die Bestimmung wurde mit der Diazoreaktion nach der Methode von Mason u. Berg (1952) durchgeführt, wobei das Diazoniumsalz des Kynurenin durch 1stündiges Inkubieren bei 37° C zerstört wird. Aliquote Teile der Versuchsansätze wurden mit gleichen Volumina 10%iger Trichloressigsäure enteiweißt und vom Filtrat 1,0—1,5 ml zur Bestimmung verwendet. Papierchromatographie wurde auch hier zur Kontrolle durchgeführt.

g) Papierchromatographie. Bei allen Versuchen wurden die entstandenen Produkte einer papierchromatographischen Analyse unterworfen. Dazu wurden entsprechende Mengen der Versuchsansätze jeweils mit dem doppelten Volumen Aceton oder Äthanol + 1% Borsäure enteiweißt und vom Filtrat 0,2 ml auf das Papier aufgetragen. In manchen Fällen wurde, um eine größere Konzentration zu erhalten, das Filtrat im Vakuum bei Zimmertemperatur eingetrocknet, der Rückstand in einer kleinen Menge Äthanol-Wasser-Gemisch (1:1) aufgenommen und davon 0,1 ml auf das Papier aufgetropft. Als Lösungsmittel wurden das Gemisch nach Mason u. Berg (1951) (s. Kynurensäurebestimmung) oder 20%ige Kaliumchloridlösung (Dalgliesh 1956) verwendet. Im letzteren Falle konnte kein Acetonfiltrat aufgetragen werden, da sich dann auf dem Chromatogramm Schwanzbildung zeigte. Das von Knox (1953) für die Kynureninbestimmung verwendete Enteiweißungsmittel Äthanol + Borsäure eignete sich dagegen für diesen Zweck sehr gut. Es wurde aufsteigend auf Whatman Nr. 1-Papier chromatographiert. Die Chromatogramme wurden bei Zimmertemperatur getrocknet und dann unter der UV-Lampe auf fluoreszierende Stoffe untersucht. In einigen Fällen wurde auch mit Ninhydrin, Ehrlichs Reagens oder diazotierter Sulfanilsäure (hergestellt nach Cramer 1953) besprüht, um Aufschluß über eine unbekannte Substanz zu erhalten.

h) Ammoniakbestimmung. Es wurde die von Conway u. Byrne (1933) angegebene Diffusionsmethode verwendet. Dazu wurden aliquote Teile der Versuchsansätze in den Außenraum der Conway-Zelle gebracht, mit konzentrierter Sodalösung versetzt und über Nacht bei 37° C stehengelassen. Im Innenraum der Zelle befand sich 1,0 ml 0,1 n HCl. Der Ammoniak wurde anschließend mit Nesslers Reagens photometrisch bestimmt.

i) Ketosäurebestimmung. Zur Bestimmung eventuell gebildeter Ketosäure wurde nach der von Clift u. Cook (1932) für die Bestimmung von Brenztraubensäure angegebenen Methode verfahren. Dazu wurden aliquote Teile der Versuchsansätze mit gleichen Volumina 10%iger Trichloressigsäure enteiweißt und das Filtrat für die Bestimmung verwendet.

k) Stickstoffbestimmung. Die Gewebssuspension wurde mit Schwefelsäure (+ Selendioxyd) verascht und die Bestimmung nach der Kjeldahl-Methode durchgeführt.

Ergebnisse

1. Tryptophanumsatz und Kynureninbildung. Eine oxydative Desaminierung des L-Tryptophan zu Ketosäure und Ammoniak konnte in keinem Falle nachgewiesen werden. Bei allen untersuchten Tieren findet in der Leber eine Kynureninbildung statt, die mit Ausnahme vom Hahn

den weitaus überwiegenden Teil, wenn nicht den gesamten Tryptophanabbau betrifft. Andere Abbauwege können, wenn sie vorkommen, quantitativ nur von sehr untergeordneter Bedeutung sein.

Eine Sauerstoffaufnahme konnte in den meisten Fällen nicht gemessen werden. Dies ist verständlich, wenn man die zum Teil sehr geringe Kynureninbildung berücksichtigt. Bei einer Kynureninbildung von z. B. 1,5 Mikromol pro Gramm Leber im Homogenat waren im Versuchsansatz 0,33 g Leber, die 0,5 Mikromol Kynurenin gebildet haben, wozu 0,5 Mikromole Sauerstoff gebraucht wurden. Das sind etwa 11 mm^3, die mit der Warburg-Methode nicht mehr exakt zu messen sind, besonders wenn auch noch, wie dies bei Homogenat der Fall ist, eine hohe Leeratmung vorhanden ist.

Tabelle 1 zeigt die Aktivität und Verteilung des Tryptophan-Peroxydase-Systems, gemessen durch die Kynureninbildung, bei den untersuchten Tieren. Da die Enzymaktivitäten in vielen Fällen starke Schwankungen zeigten, wurden keine Mittelwerte gebildet, sondern jeweils die ganze Streubreite angegeben, was unseres Erachtens ein realeres Bild der Situation gibt.

Tabelle 1. *Kynureninbildung*
Mikromol Kynurenin gebildet pro Gramm Leber in 3 Std

	Homogenat	Kerne	Mitochondrien	Mikrosomen	Cytoplasma
Ratte	3,0—7,5 (1,4—2,8)	0	0	0	3,7—8,9 (1,0—3,0)
Kaninchen	0,7—1,0	0	0	0	0,2—0,5
Hahn	0,5—0,9	0,4—0,6	0,4—0,7	0	0,3—0,6
Taube	1,4—1,6	0	0	0	1,7—5,7
Frosch	0,8—1,3	0	0	0	0,7—1,4
Fisch	0,7—2,5	0	0	0	1,0—1,9

Aus der Tabelle geht hervor, daß außer beim Hahn das Enzymsystem nur im Cytoplasma lokalisiert ist und daß die Aktivitäten in der Größenordnung nicht erheblich verschieden sind. Bei der Ratte sind in Klammern die Werte der Gruppe C aus dem noch zu besprechenden Fütterungsversuch hinzugefügt. Diese Tiere, die eine Mais + Casein-Diät erhielten, zeigen Aktivitäten, die mit denen der übrigen Tiere durchaus vergleichbar sind.

Bemerkenswert ist, daß beim Hahn eine Kynureninbildung auch in den Mitochondrien und in der Kernfraktion stattfindet. Da diese Versuche an jungen Tieren gemacht wurden, bei denen möglicherweise abweichende Verhältnisse herrschen, wurde zum Vergleich ein ausgewachsenes Tier herangezogen. Es wurden die gleichen Ergebnisse erzielt. Die Aktivitäten der einzelnen Fraktionen addieren sich nicht im Homogenat,

dagegen kann man eine wesentliche Steigerung der Kynureninbildung erzielen, wenn man Cytoplasma + Mitochondrien oder Cytoplasma + Mikrosomen inkubiert. Die Steigerung durch Mikrosomen ist größer als die durch Mitochondrien, obwohl die ersteren allein kein Kynurenin zu bilden vermögen. Die Daten sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Eine Beeinflussung der Kynureninbildung im Cytoplasma durch Mitochondrien oder Mikrosomen konnte in keinem anderen Falle festgestellt werden.

Tabelle 2. *Kynureninbildung in Hühnerleber*
Mikromol Kynurenin gebildet pro Gramm Leber in 3 Std

Cytoplasma	Mitochondrien	Mikrosomen	Cytoplasma + Mitochondrien	Cytoplasma + Mikrosomen
0,6	0,4—0,5	0	1,4—3,2	2,1—5,3

Bei der Bestimmung des Substratschwundes konnten sehr kleine Umsätze, weniger als 8—10% der eingesetzten Tryptophanmenge, mit den verwendeten Methoden nicht mit Sicherheit gemessen werden, insbesondere im Homogenat, wo viele Störfaktoren auftreten können. Es ergab sich außerdem, daß während der Inkubation die Absorption im Leerwert oft merklich anstieg, was sicher wenigstens zum Teil auf Tryptophanfreisetzung aus Eiweiß durch autolytische Prozesse zurückzuführen ist. Wenn diese Tryptophanneubildung verhältnismäßig groß ist, der Tryptophanumsatz aber nur gering, dann läßt sich dieser geringe Schwund natürlich nicht mehr mit Sicherheit feststellen. Aus den angeführten Gründen konnten beim Frosch bei Homogenat keine einwandfreien Werte erhalten werden. Da die Kynureninbildung, wie aus Tabelle 1 ersichtlich, in diesem Falle sehr gering ist, kann der Tryptophan-

Tabelle 3. *Tryptophanumsatz*
Mikromol Tryptophan umgesetzt pro Gramm Leber in 3 Std

	Homogenat	Kerne	Mitochondrien	Mikrosomen	Cytoplasma
Ratte	5,7—10,2	0	0	0	5,3—9,6
Kaninchen	1,2—1,9	0	0	0	0,5—0,9
Hahn	4,2	3,0—3,2	1,0—3,6	0	0,8—1,1
Taube	1,4—2,1	0	0	0	1,6—4,8
Frosch		0	0	0	0,6—1,5
Fisch	1,2—2,2	0	0	0	0,7—2,3

umsatz in ähnlicher Größenordnung angenommen werden. Tabelle 3 enthält die Ergebnisse der Substratschwundbestimmungen. Die Größenordnung entspricht etwa der der Kynureninbildung. Nur der Hahn

nimmt auch hier wieder eine Sonderstellung ein indem in allen Fraktionen eine Tryptophanabnahme zu verzeichnen ist, die wesentlich höher liegt als die entstandenen Kynureninmengen. Bei der Papierchromatographie mit 20%iger KCl-Lösung zeigte sich nur bei den Cytoplasmaansätzen eine grünlich fluoreszierende Substanz mit einem R_f-Wert von 0,83—0,90. Sonst gab die Papierchromatographie keinen Hinweis auf eventuell auftretende andere Produkte.

2. „Gelbe Substanz". Bei Inkubation von Cyclophorasesystem aus Hühnerleber mit Tryptophan wurde eine deutliche Gelbfärbung der Versuchsansätze beobachtet. Papierchromatographische Untersuchungen zeigten, daß es sich nicht um Kynurenin, Hydroxykynurenin oder

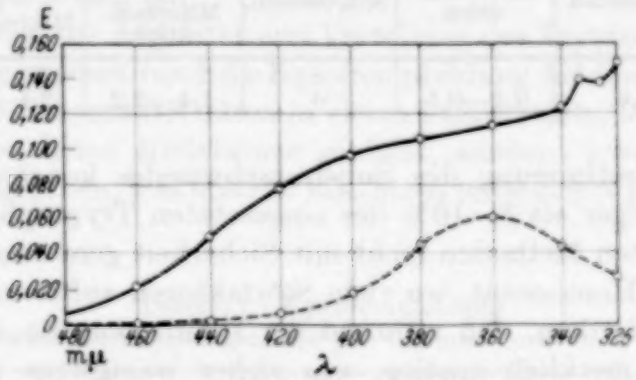

Abb. 1. Absorptionskurve eines „gelbe Substanz" enthaltenden TCE-Filtrates (s. Text). — — — Absorptionskurve von Kynurenin

Xanthurensäure handelt, die ja gleichfalls gelb gefärbt sind. Die „gelbe Substanz" wird nur bei Inkubation mit Tryptophan, nicht mit Kynurenin gebildet. Bei der Papierchromatographie mit dem Methanol-Butanol-Benzol-Wasser-Gemisch (s. Methoden) hat sie einen R_f-Wert von 0,34 bis 0,38. Mit Ninhydrin, EHRLICHs Reagens und diazotierter Sulfanilsäure ergibt sich keine Färbung. Bei dem Versuch, Filtrat eines größeren Ansatzes im Vakuum einzuengen, um eine ausreichende Menge der Substanz für weitere Untersuchungen papierchromatographisch zu isolieren, wurde diese offenbar zerstört, denn es erschienen auf dem Chromatogramm 3 Flecken mit verschiedenen R_f-Werten. Versuche mit einigen organischen Lösungsmitteln, die Substanz aus wäßrigem Filtrat von verschiedenem p_H zu extrahieren, waren erfolglos. Es wurde daher eine Absorptionskurve des wäßrigen Trichloressigsäurefiltrates aufgenommen, gemessen gegen Filtrat eines ohne Tryptophan inkubierten, sonst gleichen Ansatzes als Leerwert (Abb. 1). Ein Vergleich mit der Absorptionskurve des Kynurenin, das in diesen Ansätzen ja gleichfalls entsteht, zeigt eine Absorption zwischen etwa 460 mμ und 380 mμ mit einem Maximum bei ungefähr 420 mμ. Unterhalb 350 mμ ist wieder ein Anstieg zu erkennen. Im kürzeren UV-Bereich zeigt die Kurve keine

Abweichung von der Kontrolle, allerdings mußte hier wegen der störenden Absorption des Tryptophan stark verdünnt werden. Es scheint sich jedenfalls nicht um einen kynurenin-ähnlichen Stoff zu handeln, wie die Verschiedenheit der Kurven vermuten läßt. Die Intensität der Bildung der „gelben Substanz" war in den einzelnen Versuchen unterschiedlich, jedoch immer nachweisbar. Es ist nicht sicher, ob es sich um ein direktes Umwandlungsprodukt des Tryptophan handelt oder um eine in Gegenwart von Tryptophan sich bildende Substanz. Weitere Untersuchungen müßten hier Aufklärung bringen.

3. Fütterungsversuche. In der Rattenleber war die Kynureninbildung in einigen Fällen sehr groß. Das Tiermaterial war, wie schon erwähnt, bei diesen Versuchen sehr unterschiedlich, was bei der Labilität des Tryptophan-Peroxydase-Systems offenbar zu der großen Variabilität der Enzymaktivität beigetragen hat. Es wurden daher noch eine Reihe von Versuchen mit einheitlichem Tiermaterial angeschlossen und dabei auch der Einfluß des Futters auf die Enzymaktivität geprüft (nähere Angaben s. Tiermaterial). Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 4 zusammengefaßt. In den Partikeln ist das Enzym nicht vorhanden. Man sieht, daß nur die Tiere der Gruppe D, also mit Casein- und Tryptophanzulage, eine Kynureninbildung aufweisen, die der in früheren Versuchen vergleichbar ist. Die Tiere auf der Mais + Casein-Diät, die an sich ausreichend sein müßte, zeigen dagegen eine geringere Tryptophan-Peroxydase-Aktivität. Bei den tryptophanarm ernährten A-Tieren ist sie, wie zu erwarten war, am geringsten. Die Aktivitäten der Kynureninase und der Kynurenin-Transaminase waren nicht verändert.

Tabelle 4. *Kynureninbildung bei Ratten auf verschiedener Diät*

Mikromol Kynurenin gebildet pro Gramm Leber in 3 Std. A = Maismehl, B = Maismehl + Tryptophan, C = Maismehl + Casein, D = Maismehl + Casein + Tryptophan

	Gruppe A	Gruppe B	Gruppe C	Gruppe D
Homogenat	1,3—1,6	3,0—4,4	1,4—2,8	3,2—5,1
Cytoplasma	0,5—1,2	1,6—3,1	1,0—3,0	2,8—5,3

4. Kynureninumsatz und Bildung von Kynurensäure und Anthranilsäure. Der Kynureninumsatz (Tabelle 5) ist im Homogenat bei Kaninchen, Hahn und Taube deutlich größer, bei Ratte, Frosch und Fisch etwa in der gleichen Größenordnung wie die Kynureninbildung. Von Mitochondrien und Cytoplasma wird Kynurenin bei allen untersuchten Tieren umgesetzt, von Mikrosomen nur bei Hahn und Taube, beim Hahn außerdem auch von der Kernfraktion. Auch Rattenleberkerne setzen Kynurenin u. a.

Tabelle 5. *Kynureninumsatz*
Mikromol Kynurenin umgesetzt pro Gramm Leber in 3 Std

	Homogenat	Kerne	Mitochondrien	Mikrosomen	Cytoplasma
Ratte	3,3—4,6	0,6—0,9	0,9—1,2	0	2,6—3,8
Kaninchen	3,1—4,5	0	0,4—1,2	0	3,1—4,5
Hahn	1,0—1,2	0,2—0,8	0,4—0,5	0,4	0,7—1,0
Taube	2,2—3,5	0	0,5—0,7	0,3—0,6	0,8—3,4
Frosch	1,2	0	0,5	0	1,6—2,2
Fisch	0,7—1,2	0	0,2	0	

Im Homogenat und Cytoplasma wird das umgesetzte Kynurenin praktisch ausschließlich als Kynurensäure und Anthranilsäure wiedergefunden (Tabelle 6 und 7). Nur der Hahn macht auch hier wieder eine Ausnahme, indem mehr Kynurenin umgesetzt wird als Anthranilsäure gebildet, während Kynurensäure höchstens in Spuren nachzuweisen ist.

Tabelle 6. *Kynurensäurebildung*
Mikromole Kynurensäure gebildet pro Gramm Leber in 3 Std
— = Spuren von Kynurensäure auf dem Papierchromatogramm erkennbar

	Homogenat	Kerne	Mitochondrien	Mikrosomen	Cytoplasma
Ratte	0,7—1,4	0,4	0,7—1,0	0	0,5—0,8
Kaninchen	0,6—1,8	0	0,2—0,3	0	0,8—2,9
Hahn	0	—	—	—	—
Taube	0,3—0,6	0	0,2	0	0,2
Frosch	0,7	0	0,2—0,4	0	0,3—0,9
Fisch	0,1—0,9	0	—	0	—

Tabelle 7. *Anthranilsäurebildung*
Mikromol Anthranilsäure gebildet pro Gramm Leber in 3 Std

	Homogenat	Cytoplasma
Ratte	2,1—3,1	2,6—3,6
Kaninchen	0,8—2,2	0,6—1,8
Hahn	0,2—1,1	0,3—0,6
Taube	1,5—3,6	1,2—3,4
Frosch	0,5—0,6	0,8—1,9
Fisch	0,3—0,9	0,2—0,4

Auf dem Papierchromatogramm konnte beim Hahn in Homogenat, Cytoplasma und Mikrosomen, bei der Taube in Homogenat und Mikrosomen in einigen Fällen eine blau fluoreszierende Substanz festgestellt werden, mit einem R_f-Wert von 0,61—0,64 bei Methanol-Butanol-Benzol Wasser-Gemisch als Lösungsmittel.

Wie bei allen bisher untersuchten Tieren wird Anthranilsäure nur im Cytoplasma gebildet, Kynurensäure in Cytoplasma und Mitochondrien. Nennenswerte Mengen anderer Umsetzungsprodukte wurden nicht festgestellt. Die Kynurenin-Hydroxylierung, die als dritter Umwandlungsmechanismus des Kynurenin von Interesse gewesen wäre, konnte leider nicht untersucht werden, da 3-Hydroxykynurenin als Testsubstanz nicht zur Verfügung stand.

Diskussion

1. Temperatur und Stoffwechselintensität. Die vorstehenden Untersuchungen geben einen Überblick über die ersten Stufen des Tryptophanabbaus in der Leber bei Vertretern verschiedener Vertebratenklassen. Es fällt auf, daß von Einzelheiten abgesehen doch eine außerordentlich weitgehende Übereinstimmung festzustellen ist, und zwar nicht nur in qualitativer Hinsicht, sondern auch in der quantitativen Leistung der einzelnen Fermente. Bei der Verschiedenheit der physiologischen Gegebenheiten bei dem untersuchten Tiermaterial war besonders das letztere nicht ohne weiteres vorauszusehen.

Nun muß man berücksichtigen, daß die Versuche alle bei 37° C durchgeführt wurden. Dafür waren 2 Gründe maßgebend: 1. kann man für die Poikilothermen keine bestimmte Temperatur als „physiologische" bezeichnen, sondern sie schwankt eben in sehr weiten Grenzen; 2. wären bei Verwendung niedrigerer Temperaturen die Umsätze zum Teil so klein gewesen, daß sie nicht mehr hätten exakt gemessen werden können. Daher wurde die für Säuger charakteristische Temperatur von 37° C für die ganze Versuchsreihe beibehalten. Da aber die Enzymreaktionen von der Temperatur abhängig sind, kann man bei den Vögeln, mit einer Körpertemperatur von 40° und mehr, in vivo mit etwas höheren Werten als den gemessenen rechnen, während sie bei den Poikilothermen, der Außentemperatur entsprechend, im allgemeinen niedriger sein werden. Dies könnte zum Teil erklären, daß die grundsätzliche Enzymleistung der Leber bei den stoffwechselintensiven Vögeln und den stoffwechselträgeren niederen Vertebraten sehr ähnlich ist.

Ein interessanter Nebenbefund ist beim Frosch, der ja eine Winterruhe ohne Nahrungsaufnahme und mit minimalem Stoffwechsel durchmacht, daß die im August und im November erhaltenen Enzymaktivitäten gleich groß waren. Dies ist ein weiteres Beispiel dafür, daß Fermenteiweiß bei Mangelzuständen offenbar erst in letzter Linie angegriffen wird.

2. Oxydative Desaminierung. Wie schon einleitend erwähnt, ist eine oxydative Desaminierung des Tryptophan in einigen Fällen berichtet worden. Die Existenz von L-Aminosäure-Oxydasen ist aber umstritten.

Es scheint, daß in den meisten Fällen die Bildung der Ketosäure durch eine Transaminierungsreaktion erfolgt (BÄSSLER u. HAMMAR 1958), die somit den einleitenden Schritt beim Abbau der meisten aliphatischen Aminosäuren darstellt. Es sind bisher zahlreiche Transaminasen aufgefunden worden. Einige informatorische Untersuchungen zeigten, daß auch von Tryptophan eine Transaminierung auf α-Ketosäuren in geringem Umfange stattfindet. Andererseits wird, wie KOTAKE, YORITAKA u. OTANI (1941) berichten, zugeführte Indolbrenztraubensäure im Organismus zu L-Tryptophan umgewandelt (Kaninchen und Hund), um dann in der üblichen Weise über Kynurenin abgebaut zu werden. Da die Transaminierungsreaktion von der Konzentration der Reaktionspartner abhängt, ist es erklärlich, daß bei einem Überschuß von einer α-Ketosäure und Tryptophan die Reaktion im Sinne einer Desaminierung des Tryptophan verlaufen wird, während beim Auftreten größerer Mengen Indolbrenztraubensäure die Reaktion in der entgegengesetzten Richtung stattfindet.

Diese Überlegungen machen es unwahrscheinlich, daß eine oxydative Desaminierung des Tryptophan beim Säugetier eine Rolle spielt. Da eine Bildung von Ketosäure und Ammoniak aus Tryptophan auch bei den übrigen Tieren nicht gefunden wurde, muß man annehmen, daß die Verhältnisse bei diesen die gleichen sind wie beim Säuger. Die Mitteilung, daß Hühnerlebermikrosomen diese Reaktion katalysieren (STRUCK u. SIZER 1957), konnte nicht bestätigt werden, wenigstens nicht unter unseren Versuchsbedingungen.

3. Nahrungseinfluß. Die Fütterungsversuche an Ratten haben gezeigt, daß nicht nur bei Tryptophanzulage die Aktivität des Tryptophan-Peroxydase-Systems ansteigt, sondern auch, daß bei tryptophanarmer Nahrung die Aktivität deutlich unter die Normalwerte absinkt. Dies zeigt ein Vergleich der Gruppe A mit den Normaltieren. Die Aktivitätssteigerung durch Tryptophanzulage kommt in diesen Versuchen wohl im Vergleich zu den Kontrollgruppen, nicht aber im Vergleich zu den früher an anderem Tiermaterial gemachten Versuchen zur Geltung und ist auf jeden Fall geringer als die in der Literatur beschriebene. Dazu muß gesagt werden, daß die Ratten ihr Futter jeweils am Abend erhielten und im Laufe der Nacht, wahrscheinlich eher in den ersten Nachtstunden, fraßen. Da die Aktivitätssteigerung schon nach wenigen Stunden einsetzt und in 15—20 Std wieder abgeklungen ist (KNOX u. MEHLER 1951; LEE, KILE u. OLDHAM 1956), war zur Zeit der Tötung der Tiere, etwa 8—9 Uhr morgens, der Normalzustand fast wiederhergestellt. Trotzdem ist der Einfluß noch deutlich.

Die Kontrollgruppen C und D wurden herangezogen, um zu sehen, ob die bei Maismehlfütterung gleichzeitig vorhandene Eiweißarmut

(Mais enthält etwa 10% Protein) etwa die Enzymneubildung, die nach Ansicht der oben genannten Verfasser für die Aktivitätssteigerung verantwortlich zu machen ist, beeinträchtigt. Wie die Ergebnisse zeigen, ist dies kaum der Fall, die Gruppen B und D zeigen keinen deutlichen Unterschied, vor allem wenn man berücksichtigt, daß die Tiere der Gruppe D etwa 12% mehr Tryptophan erhielten als die der Gruppe B. Allerdings gilt dies nur für Homogenat, für die Cytoplasmaaktivität scheint der unterschiedliche Eiweißgehalt des Futters doch eine Bedeutung zu haben. Bei allen Fütterungsversuchen hat sich gezeigt, daß bei Verwendung von einheitlichem Tiermaterial die Streuungen der Ergebnisse viel geringer sind.

Wieweit der Unterschied Pflanzenfresser—Fleischfresser bzw. Allesfresser eine Rolle spielt, ist nicht ganz klar. Nach den Ergebnissen der Fütterungsversuche wäre zu erwarten, daß Fleischfresser, deren Nahrung tryptophanreicher ist, eine höhere Tryptophan-Peroxydase-Aktivität zeigen als Pflanzenfresser. Zwar hat sich gezeigt, daß beim Kaninchen, als reinem Pflanzenfresser, die Aktivität dieses Enzymsystems besonders niedrig ist, jedoch wird von DE CASTRO, BROWN u. PRICE (1957) eine ähnlich niedrige Aktivität auch für die Katze angegeben, die ja ein Fleischfresser ist. Andererseits ist auch das Kaninchen in der Lage, bei Adaptation durch hohe Tryptophangaben die Kynureninbildung wesentlich zu steigern (KNOX u. MEHLER 1951). DUBNOFF u. DIMICK (1959) fanden, daß das in der Leber adaptiv gebildete Enzym auch in der Kälte sehr unbeständig ist. Durch Gegenwart von Tryptophan wird die Beständigkeit vergrößert. Die Verff. nehmen an, daß das Enzym in der Leber ständig neu synthetisiert und wieder abgebaut wird, durch Tryptophanzufuhr würde der Abbau gehemmt und die Aktivität steigt an. Es scheint also eine gewisse Minimalaktivität vorhanden zu sein, die bei Bedarf sehr rasch angepaßt werden kann. Wenn das auch für die anderen Tiere zutrifft, dann würde es für die hier vorliegenden Untersuchungen bedeuten, daß beim Frosch und Fisch die gemessenen Werte für dieses Enzym Minimalwerte darstellen, da diese Tiere, wie erwähnt, vor den Versuchen mehrere Tage gehungert hatten, während alle anderen Tiere bis zum Vortage des Versuches normales Futter erhielten.

4. Sonstige Einflüsse. Die Einwirkungen auf dieses Fermentsystem scheinen überhaupt sehr komplexer Natur zu sein. KNOX (1951) kommt auf Grund von Untersuchungen an adrenalektomierten Ratten zu der Auffassung, daß der Anstieg der Tryptophan-Peroxydase-Aktivität auf 2 Wegen erfolgen kann: 1. durch Enzymadaptation bei vermehrtem Substratangebot und 2. als allgemeine Reaktion bei Stimulierung des Nebennierenhypophysen-Systems, also durch hormonale Einflüsse. Wie schon erwähnt, sind bei den Ratten in einigen Fällen sehr hohe Aktivitäten gemessen worden, die später nicht reproduziert werden konnten.

Es wäre denkbar, daß durch zufällige Umwelteinflüsse (z. B. Handhabung der Tiere) eine Reaktion im Sinne der zweiten Möglichkeit eingetreten war, insbesondere da es sich bei diesen Tieren um einen lebhafteren und damit sicher auch leichter reizbaren Stamm gehandelt hat, als es die später verwendeten Albinoratten waren. Die von anderen Autoren (de Castro, Brown u. Price 1957, Knox u. Mehler 1951) für Rattenleber gefundenen Tryptophan-Peroxydase-Aktivitäten liegen zwischen denen unserer C-Gruppe und denen unserer „Normaltiere".

5. Kynureninbildung. Vergleicht man die Kynureninbildung (Tabelle 1) im Homogenat, so sieht man, daß sie bei Kaninchen und Hahn besonders gering ist. Im Cytoplasma ist der Unterschied noch deutlicher. Trotzdem liegen hier zwei ganz verschiedene Situationen vor: 1. ist beim Hahn auch in den Mitochondrien und in der Kernfraktion Aktivität vorhanden und 2. ergibt die Kombination von Cytoplasma mit Mitochondrien oder Mikrosomen (Tabelle 2) eine wesentlich höhere Aktivität. Beides ist beim Kaninchen nicht der Fall, sondern hier stellen die erhaltenen Werte tatsächlich die Gesamtleistung dar. Warum beim Hahn die Werte der Fraktionen sich nicht zu einem entsprechend höheren Homogenatwert addieren bleibt ungeklärt, ebenso wie die Tatsache, daß die aktivitätssteigernde Wirkung der Partikel im Homogenat nicht zur Geltung kommt. Es scheint, daß die Kernfraktion hier eine Rolle spielt, und daß im Homogenat, wie später erörtert werden wird, ein zweiter Abbauweg mit der Kynureninbildung konkurriert.

Bemerkenswert ist, daß die Kynureninbildung durch Mikrosomen mehr erhöht wird als durch Mitochondrien, wobei sich die Frage erhebt, ob während der Inkubation in Gegenwart von Tryptophan vielleicht eine Aktivitätssteigerung stattfindet und dabei Eiweißsynthese eine Rolle spielt, an der die Mikrosomen ja beteiligt sind. Clouet u. Gordon (1959) und Gordon u. Rydziel (1959) haben neuerdings eine Beteiligung der Mitochondrien bei einer in vitro-Induktion der Tryptophan-Peroxydase in Rattenleber festgestellt. Sie tritt allerdings nur unter bestimmten Bedingungen auf und die Verff. glauben, daß die in vitro-Aktivitätssteigerung nicht auf Enzymneubildung beruht. Nach den vorliegenden Befunden beim Hahn läßt sich über die Rolle der Partikel bei der Kynureninbildung nichts Sicheres aussagen. Offenbar handelt es sich aber nicht um das gleiche Phänomen wie das von den genannten Verff. beobachtete, da in unserem Falle die Mitochondrien die Aktivität der Cytoplasma + Mikrosomen-Fraktion nicht mehr zu steigern vermochten. Die genannten Tatsachen machen wieder einmal deutlich, daß Einzelbefunde, die an Homogenat oder an isolierten Zellfraktionen gemacht werden, nicht ohne weiteres das Geschehen in der intakten Zelle wiedergeben, das viel komplizierter sein kann.

Während die Enzymaktivität des Homogenats sich in den übrigen Fällen praktisch unverändert im Cytoplasma wiederfindet, ist sie beim Kaninchen hier nur halb so groß. Dies kann entweder durch Fehlen irgendeines Faktors im Cytoplasma bedingt sein, oder das Ferment wird in diesem Falle schneller zerstört. Welcher Fall hier vorliegt, konnte nicht entschieden werden, da aber Mitochondrien und Mikrosomen die Cytoplasmaaktivität nicht beeinflußten, scheint die zweite Alternative mehr Wahrscheinlichkeit zu besitzen. Eine auffallende Parallele findet man bei den Ratten der Gruppen A und B im Fütterungsversuch, also bei den eiweißarm ernährten Tieren.

Umgekehrt ist bei der Taube die Aktivität im Cytoplasma größer als im Homogenat. Da der Tryptophanumsatz gut mit der Kynureninbildung übereinstimmt, liegt hier im Homogenat wahrscheinlich eine Hemmung vor.

6. Kynureninbildung und Tryptophanumsatz. Bei Ratte, Taube, Frosch und Fisch liegt die Kynureninbildung etwa in der gleichen Größenordnung wie die Tryptophanabnahme, woraus man schließen kann, daß praktisch alles Tryptophan über Kynurenin abgebaut wird. Bei der Ratte liegt der Tryptophanschwund etwas höher, jedoch sind hier auf dem Papierchromatogramm regelmäßig auch Kynurensäure und Anthranilsäure nachzuweisen, es wird also ein Teil des gebildeten Kynurenin gleich weiter umgesetzt. Beim Kaninchen dürfte dasselbe zutreffen, insbesondere da hier einer sehr geringen Kynureninbildung ein sehr intensiver Kynureninumsatz gegenübersteht.

Anders liegen die Verhältnisse beim Hahn. Hier ist der Tryptophanumsatz erheblich größer als die Kynureninbildung, und zwar in allen Fraktionen. Der verhältnismäßig geringe Kynureninumsatz spricht nicht dafür, daß größere Mengen Kynurenin gleich weiter abgebaut werden. Es scheint also hier offenbar noch einen zweiten Weg des Tryptophanabbaus zu geben. Möglicherweise steht die „gelbe Substanz" damit in Zusammenhang. Die Papierchromatographie lieferte keine weiteren Anhaltspunkte.

7. Kynureninumsatz. Der Kynureninumsatz im Homogenat entspricht bei Ratte, Frosch und Fisch etwa der Kynureninbildung, in den übrigen Fällen ist er größer. Die Leber kann also normalerweise die anfallenden Kynureninmengen weiter umsetzen. Übereinstimmend findet sich bei allen Tieren ein Kynureninabbau in Cytoplasma und Mitochondrien, bei Hahn und Taube aber außerdem auch in den Mikrosomen, bei Hahn und Ratte auch in der Kernfraktion. Am auffallendsten ist wohl der Kynureninabbau durch Mikrosomen, weil dies bisher der einzige Fall ist, in dem die Mikrosomen aktiv am Tryptophanstoffwechsel

beteiligt sind. Das Umwandlungsprodukt konnte jedoch nicht identifiziert werden, es ist aber weder Kynurensäure noch Anthranilsäure. Die umgesetzten Mengen sind sehr gering.

Außer beim Hahn wird das Kynurenin fast ausschließlich zu Kynurensäure und Anthranilsäure umgesetzt, wobei im Plasma die Anthranilsäurebildung überwiegt, während die Mitochondrien nur Kynurensäure bilden. Diese Befunde entsprechen den bisher von Säugetieren bekannten Tatsachen. Der Hahn macht auch hier wieder eine Ausnahme. Es ist bekannt, daß er keine Kynurensäure ausscheidet (Ichihara u. Goto 1936). Damit steht im Einklang, daß auch keine Kynurensäurebildung, oder höchstens Spuren, nachgewiesen wurde. Es liegt also hier ein ähnlicher Fall vor wie bei der Katze, die gleichfalls keine Kynurensäure ausscheidet und für die de Castro, Brown u. Price (1957) eine aktive Kynureninase neben einer sehr schwach wirksamen Kynurenin-Transaminase fanden, außerdem eine sehr aktive Kynurenin-Hydroxylase. Das letztere Ferment konnte, wie schon erwähnt, leider nicht untersucht werden, man kann aber vermuten, daß es auch hier eine Rolle spielt und vielleicht für den Kynureninschwund in den Partikeln verantwortlich ist.

Zusammenfassung

Der Tryptophanabbau in der Leber von Ratte (*Mus rattus* L. *domest.*), Kaninchen (*Oryctolagus cuniculus* L. *domest.*), Hahn (*Gallus bankiva domest.*), Taube (*Columba livia* L.), Frosch (*Rana temporaria* L.) und Fisch (*Leuciscus rutilus* L.) wurde in qualitativer und quantitativer Hinsicht untersucht. Es wurden die Aktivitäten des Tryptophan-Peroxydase-Systems, der Kynureninase und der Kynurenin-Transaminase bestimmt, sowie ihre Verteilung auf die einzelnen Zellfraktionen. Die Papierchromatographie wurde zur qualitativen Analyse der entstandenen Stoffwechselprodukte herangezogen.

Außer beim Hahn wird Tryptophan praktisch ausschließlich über Kynurenin zu Kynurensäure und Anthranilsäure abgebaut. Die Verteilung der Enzyme auf die Zellfraktionen entspricht der vom Säugetier bekannten, die Aktivitäten liegen in der gleichen Größenordnung.

Beim Hahn wird Kynurenin auch von Mitochondrien und Kernfraktion gebildet. Die Kynureninbildung im Cytoplasma wird durch Kombination von Cytoplasma + Mikrosomen oder Cytoplasma + Mitochondrien auf das Mehrfache erhöht. Auch scheint beim Hahn neben der Kynureninbildung noch ein zweiter Mechanismus des Tryptophanabbaus vorhanden zu sein. Durch Cyclophorasesystem wird aus Tryptophan eine „gelbe Substanz" gebildet, die aber nicht identifiziert werden konnte. Eine Kynurensäurebildung wird beim Hahn nicht gefunden, was im Einklang steht mit der Tatsache, daß er keine Kynurensäure ausscheidet.

Fütterungsversuche an Ratten ergaben, daß bei tryptophanarmer Nahrung die Aktivität des Tryptophan-Peroxydase-Systems deutlich unter die Normalwerte absinkt, während Kynureninase und Kynureninтransaminase nicht beeinflußt werden.

Literatur

Bässler, K. H., u. C.-H. Hammar: Aminosäurestoffwechsel in Zellfraktionen der Rattenleber. Transaminierungen und Oxydation von L-Aminosäuren. Biochem. Z. **330**, 555 (1958).

Borghi, B.: Ulteriori ricerche sul metabolismo degli aminoacidi nella cute. Il triptofano. Riv. Biol. **30**, 262 (1940).

Castro, F. T. de, R. R. Brown and J. M. Price: The intermediary metabolism of tryptophan by cat and rat tissue preparations. J. biol. Chem. **228**, 777 (1957).

Clift, F. P., and R. P. Cook: A method of determination of some biologically important aldehydes and ketones, with special reference to pyruvic acid and methylglyoxal. Biochem. J. **26**, 1788 (1932).

Clouet, D. H., and M. W. Gordon: The effekt of tryptophan on the tryptophan peroxydase activity of cell-free systems from rat liver. Arch. Biochem. **84**, 22 (1959).

Conway, E. J., and A. Byrne: An absorption apparatus for the micro-determination of certain volatile substances. I. The micro-determination of ammonia. Biochem. J. **27**, 419 (1933).

Cramer, Friedr.: Papierchromatographie, 2. Aufl., S. 89. Weinheim: Verlag Chemie 1953.

Dalgliesh, C. E.: Two-dimensional paper chromatography of urinary indoles and related substances. Biochem. J. **64**, 481 (1956).

Dubnoff, J. W., and M. Dimick: The stability of the adaptive enzyme, tryptophan peroxidase. Biochim. biophys. Acta **31**, 541 (1959).

Edlbacher, S., u. O. Wiss: Zur Kenntnis des Abbaues der Aminosäuren im tierischen Organismus. 3. u. 4. Über den oxydativen Abbau der Aminosäuren im Gehirn. Helv. chim. Acta **27**, 1060, 1824 (1944).

Gordon, M. W., and I. J. Rydziel: The role of mitochondria in in vitro tryptophan peroxidase increments. Arch. Biochem. **84**, 32 (1959).

Green, D. E., W. T. Loomis and V. H. Auerbach: Studies on the cyclophorase system. I. The complete oxidation of pyruvic acid to carbon dioxide and water. J. biol. Chem. **172**, 389 (1948).

Hunter jr., F. E., and L. Ford: Inaktivation of oxidative and phosphorylative systems in mitochondria by preincubation with phosphate and other ions. J. biol. Chem. **216**, 357 (1955).

Ichihara, K., u. S. Goto: Kynurensäurebildung bei verschiedenen Tierarten. Hoppe Seylers Z. physiol. Chem. **243**, 256 (1936).

Knox, W. E.: Two mechanisms which increase in vivo the liver tryptophan peroxidase activity; specific enzyme adaptation and stimulation of the pituitary-adrenal system. Brit. J. exp. Path. **32**, 462 (1951).

Knox, W. E.: The relation of liver kynureninase to tryptophan metabolism in pyridoxine deficiency. Biochem. J. **53**, 379 (1953).

Knox, W. E., and A. H. Mehler: The adaptive increase of the tryptophan peroxidase-oxidase system of liver. Science **113**, 237 (1951).

Kotake, Y., T. Yoritaka u. S. Otani: Über den Mechanismus der Kynurensäurebildung im Tierkörper. II. Mitt. Hoppe Seylers Z. physiol. Chem. **270**, 68 (1941).

Krebs, H. A.: Untersuchungen über den Stoffwechsel der Aminosäuren im Tierkörper. Hoppe Seylers Z. physiol. Chem. **217**, 191 (1933).

Krebs, H. A.: Weitere Untersuchungen über den Abbau der Aminosäuren im Tierkörper. Hoppe Seylers Z. physiol. Chem. **218**, 157 (1933).

Lee, N. D., H. L. Kile and A. M. Oldham: The induced increase in the tryptophan peroxidase-oxidase activity of rat liver: Time studies. J. biol. Chem. **219**, 211 (1956).

Mason, M., and C. P. Berg: A chromatographic method for the detection of tryptophan metabolites. J. biol. Chem. **188**, 783 (1951).

Mason, M., and C. P. Berg: The metabolism of D- and L-tryptophan and D- and L-kynurenine by liver and kidney preparations. J. biol. Chem. **195**, 515 (1952).

Mehler, A. H., and W. E. Knox: The conversion of tryptophan to kynurenine in liver. II. The enzymatic hydrolysis of formylkynurenine. J. biol. Chem. **187**, 431 (1950).

Schneider, W. C.: Intracellular distribution of enzymes. III. The oxidation of octanoic acid by rat liver fractions. J. biol. Chem. **176**, 259 (1948).

Shaw, J. L. D., and W. D. McFarlane: The determination of tryptophan by a modified glyoxylic acid method employing photoelectric colorimetry. Canad. J. Res., B **16**, 361 (1938).

Struck, J., and I. W. Sizer: Oxidation of L-α-amino acids by chicken liver microsomes. Fed. Proc. **16**, 257 (1957).

Helga Kunte, Physiologisch-Chemisches Institut der Universität, Mainz, Saarstraße

Aufnahmebedingungen

I. Sachliche Anforderungen

1. Der Inhalt der Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören.

2. Die Arbeit muß wissenschaftlich wertvoll sein und Neues bringen. Bloße Bestätigungen bereits anerkannter Befunde können, wenn überhaupt, nur in kürzester Form aufgenommen werden. Dasselbe gilt von Versuchen und Beobachtungen, die ein positives Resultat nicht ergeben haben. Arbeiten rein referierenden Inhalts werden abgelehnt, vorläufige Mitteilungen nur ausnahmsweise aufgenommen. Polemiken sind zu vermeiden, kurze Richtigstellung der Tatbestände ist zulässig. Aufsätze spekulativen Inhalts sind nur dann geeignet, wenn sie durch neue Gesichtspunkte die Forschung anregen.

II. Formelle Anforderungen

1. Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben sein. Die Abbildungsvorlagen sind auf besonderen Blättern einzuliefern. Diktierte Arbeiten bedürfen der stilistischen Durcharbeitung zur Vermeidung von weitschweifiger und unsorgfältiger Darstellung. Absätze sind nur zulässig, wenn sie neue Gedankengänge bezeichnen.

2. Die Arbeiten müssen *kurz* und ohne inhaltliche Wiederholung geschrieben sein. Arbeiten in den anderen Kongreßsprachen können nur aufgenommen werden, wenn es sich um die Muttersprache des Autors handelt. Ausführliche historische Einleitungen sind zu vermeiden. Die Fragestellung kann durch wenige Sätze klargelegt werden. Der Anschluß an frühere Behandlungen des Themas ist durch Hinweis auf die letzten Literaturzusammenstellungen (in Monographien, „Ergebnissen", Handbüchern) herzustellen.

3. Der Weg, auf dem die Resultate gewonnen wurden, muß klar erkennbar sein; jedoch hat eine ausführliche Darstellung der Methodik nur dann Wert, wenn sie wesentlich Neues enthält.

4. Jeder Arbeit ist eine kurze Zusammenstellung (höchstens 1 Seite) der wesentlichen Ergebnisse anzufügen.

5. Von jeder Versuchsart bzw. von jedem Tatsachenbestand ist in der Regel nur *ein* Protokoll im Telegrammstil als Beispiel in knappster Form mitzuteilen. Das übrige Beweismaterial kann im Text oder, wenn dies nicht zu umgehen ist, in Tabellenform gebracht werden; dabei müssen aber zu umfangreiche tabellarische Zusammenstellungen unbedingt vermieden werden. Es wird empfohlen, durch eine Fußnote darauf hinzuweisen, in welchem Institut das gesamte Beweismaterial eingesehen oder angefordert werden kann.

6. Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken. Entscheidend für die Frage, ob Bild oder Text, ist im Zweifelsfall die Platzersparnis. Kurze, aber erschöpfende Figurenunterschriften erübrigen nochmalige Beschreibung im Text. Für jede Versuchsart, jedes Präparat ist nur *ein* gleichartiges Bild, Kurve u. ä. zulässig. Unzulässig ist im allgemeinen die *doppelte* Darstellung in Tabelle und Kurve. *Farbige* Bilder können nur in Ausnahmefällen Aufnahme finden. Didaktische Gesichtspunkte bleiben hierbei außer Betracht, da die Aufsätze in den Archiven nicht von Anfängern gelesen werden.

7. Literaturangaben, die nur im Text berücksichtigte Arbeiten enthalten dürfen, erfolgen mit vollständigem Titel der Arbeit, Zeitschriftentitel (in der Abkürzung nach den World Medical Periodicals), Band-, Seiten- und Jahreszahl. Die Literaturangaben sind am Schluß der Arbeit nach den Autorennamen *alphabetisch* anzuordnen und nicht zu numerieren. Werden mehrere Arbeiten des gleichen Autors zitiert, so ist an der betreffenden Stelle im Text eine in Klammer gesetzte 1, 2 bzw. 3 hinter dem Autorennamen einzufügen. Im Literaturverzeichnis steht diese Zahl, ebenfalls in Klammern gesetzt, vor der betreffenden Arbeit. Bücher müssen mit vollem Titel, Auflage, Ort, Verlag und Jahr zitiert werden.

8. Die Beschreibung von Methodik, Protokollen und anderen weniger wichtigen Teilen ist für *Kleindruck* vorzumerken. Die Lesbarkeit des Wesentlichen wird hierdurch gehoben.

9. Das Zerlegen einer Arbeit in mehrere Mitteilungen, um sie kürzer erscheinen zu lassen, ist unzulässig.

10. Doppeltitel sind aus bibliographischen Gründen unerwünscht. Das gilt insbesondere, wenn die Autoren in Ober- und Untertitel einer Arbeit nicht die gleichen sind.

11. An *Dissertationen*, soweit deren Aufnahme überhaupt zulässig erscheint, werden nach Form und Inhalt dieselben Anforderungen gestellt wie an andere Arbeiten. Danksagungen an Institutsleiter, Dozenten usw. werden nicht abgedruckt. Zulässig hingegen sind einzeilige Fußnoten, mit der Mitteilung, wer die Arbeit angeregt, und geleitet hat oder wem die Mittel verdankt werden. *Festschriften* und *Monographien* gehören nicht in den Rahmen einer Zeitschrift.

Krebs, H. A.: Untersuchungen über den Stoffwechsel der Aminosäuren im Tierkörper. Hoppe Seylers Z. physiol. Chem. **217**, 191 (1933).

Krebs, H. A.: Weitere Untersuchungen über den Abbau der Aminosäuren im Tierkörper. Hoppe Seylers Z. physiol. Chem. **218**, 157 (1933).

Lee, N. D., H. L. Kile and A. M. Oldham: The induced increase in the tryptophan peroxidase-oxidase activity of rat liver: Time studies. J. biol. Chem. **219**, 211 (1956).

Mason, M., and C. P. Berg: A chromatographic method for the detection of tryptophan metabolites. J. biol. Chem. **188**, 783 (1951).

Mason, M., and C. P. Berg: The metabolism of D- and L-tryptophan and D- and L-kynurenine by liver and kidney preparations. J. biol. Chem. **195**, 515 (1952).

Mehler, A. H., and W. E. Knox: The conversion of tryptophan to kynurenine in liver. II. The enzymatic hydrolysis of formylkynurenine. J. biol. Chem. **187**, 431 (1950).

Schneider, W. C.: Intracellular distribution of enzymes. III. The oxidation of octanoic acid by rat liver fractions. J. biol. Chem. **176**, 259 (1948).

Shaw, J. L. D., and W. D. McFarlane: The determination of tryptophan by a modified glyoxylic acid method employing photoelectric colorimetry. Canad. J. Res., B **16**, 361 (1938).

Struck, J., and I. W. Sizer: Oxidation of L-α-amino acids by chicken liver microsomes. Fed. Proc. **16**, 257 (1957).

Helga Kunte, Physiologisch-Chemisches Institut der Universität, Mainz, Saarstraße

Aufnahmebedingungen

I. Sachliche Anforderungen

1. Der Inhalt der Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören.

2. Die Arbeit muß wissenschaftlich wertvoll sein und Neues bringen. Bloße Bestätigungen bereits anerkannter Befunde können, wenn überhaupt, nur in kürzester Form aufgenommen werden. Dasselbe gilt von Versuchen und Beobachtungen, die ein positives Resultat nicht ergeben haben. Arbeiten rein referierenden Inhalts werden abgelehnt, vorläufige Mitteilungen nur ausnahmsweise aufgenommen. Polemiken sind zu vermeiden, kurze Richtigstellung der Tatbestände ist zulässig. Aufsätze spekulativen Inhalts sind nur dann geeignet, wenn sie durch neue Gesichtspunkte die Forschung anregen.

II. Formelle Anforderungen

1. Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben sein. Die Abbildungsvorlagen sind auf besonderen Blättern einzuliefern. Diktierte Arbeiten bedürfen der stilistischen Durcharbeitung zur Vermeidung von weitschweifiger und unsorgfältiger Darstellung. Absätze sind nur zulässig, wenn sie neue Gedankengänge bezeichnen.

2. Die Arbeiten müssen *kurz* und ohne inhaltliche Wiederholung geschrieben sein. Arbeiten in den anderen Kongreßsprachen können nur aufgenommen werden, wenn es sich um die Muttersprache des Autors handelt. Ausführliche historische Einleitungen sind zu vermeiden. Die Fragestellung kann durch wenige Sätze klargelegt werden. Der Anschluß an frühere Behandlungen des Themas ist durch Hinweis auf die letzten Literaturzusammenstellungen (in Monographien, „Ergebnissen", Handbüchern) herzustellen.

3. Der Weg, auf dem die Resultate gewonnen wurden, muß klar erkennbar sein; jedoch hat eine ausführliche Darstellung der Methodik nur dann Wert, wenn sie wesentlich Neues enthält.

4. Jeder Arbeit ist eine kurze Zusammenstellung (höchstens 1 Seite) der wesentlichen Ergebnisse anzufügen.

5. Von jeder Versuchsart bzw. von jedem Tatsachenbestand ist in der Regel nur *ein* Protokoll im Telegrammstil als Beispiel in knappster Form mitzuteilen. Das übrige Beweismaterial kann im Text oder, wenn dies nicht zu umgehen ist, in Tabellenform gebracht werden; dabei müssen aber zu umfangreiche tabellarische Zusammenstellungen unbedingt vermieden werden. Es wird empfohlen, durch eine Fußnote darauf hinzuweisen, in welchem Institut das gesamte Beweismaterial eingesehen oder angefordert werden kann.

6. Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken. Entscheidend für die Frage, ob Bild oder Text, ist im Zweifelsfall die Platzersparnis. Kurze, aber erschöpfende Figurenunterschriften erübrigen nochmalige Beschreibung im Text. Für jede Versuchsart, jedes Präparat ist nur *ein* gleichartiges Bild, Kurve u. ä. zulässig. Unzulässig ist im allgemeinen die *doppelte* Darstellung in Tabelle und Kurve. *Farbige* Bilder können nur in Ausnahmefällen Aufnahme finden. Didaktische Gesichtspunkte bleiben hierbei außer Betracht, da die Aufsätze in den Archiven nicht von Anfängern gelesen werden.

7. Literaturangaben, die nur im Text berücksichtigte Arbeiten enthalten dürfen, erfolgen mit vollständigem Titel der Arbeit, Zeitschriftentitel (in der Abkürzung nach den World Medical Periodicals), Band-, Seiten- und Jahreszahl. Die Literaturangaben sind am Schluß der Arbeit nach den Autorennamen *alphabetisch* anzuordnen und nicht zu numerieren. Werden mehrere Arbeiten des gleichen Autors zitiert, so ist an der betreffenden Stelle im Text eine in Klammer gesetzte 1, 2 bzw. 3 hinter dem Autorennamen einzufügen. Im Literaturverzeichnis steht diese Zahl, ebenfalls in Klammern gesetzt, vor der betreffenden Arbeit. Bücher müssen mit vollem Titel, Auflage, Ort, Verlag und Jahr zitiert werden.

8. Die Beschreibung von Methodik, Protokollen und anderen weniger wichtigen Teilen ist für *Kleindruck* vorzumerken. Die Lesbarkeit des Wesentlichen wird hierdurch gehoben.

9. Das Zerlegen einer Arbeit in mehrere Mitteilungen, um sie kürzer erscheinen zu lassen, ist unzulässig.

10. Doppeltitel sind aus bibliographischen Gründen unerwünscht. Das gilt insbesondere, wenn die Autoren in Ober- und Untertitel einer Arbeit nicht die gleichen sind.

11. An *Dissertationen*, soweit deren Aufnahme überhaupt zulässig erscheint, werden nach Form und Inhalt dieselben Anforderungen gestellt wie an andere Arbeiten. Danksagungen an Institutsleiter, Dozenten usw. werden nicht abgedruckt. Zulässig hingegen sind einzeilige Fußnoten, mit der Mitteilung, wer die Arbeit angeregt, und geleitet hat oder wem die Mittel verdankt werden. *Festschriften* und *Monographien* gehören nicht in den Rahmen einer Zeitschrift.

Vor kurzem erschien:

GLAUKOM

Ein Handbuch

Von Dr. WOLFGANG LEYDHECKER,

apl. Professor der Universitäts-Augenklinik Bonn

Mit 11 Abbildungen. XXVI, 666 Seiten Gr.-8°. 1960.

Ganzleinen DM 89,60

INHALTSÜBERSICHT

Allgemeines · Klinische Formen des Glaukoms und Hypothesen über die Ursachen · Untersuchungsmethoden · Medikamentöse und physikalische Therapie · Operative Therapie · Namen- und Sachverzeichnis.

ZUR INFORMATION

In diesem Buch, das an die letzte große Literaturübersicht von PETERS (1930) anschließt, sind die von 1930—1957/8 erschienenen zahlreichen (rund 8000) Arbeiten über das Glaukom kritisch besprochen. Es ist die einzige umfassende Literatursammlung für diese Zeitspanne.

Das Glaukomproblem wird hier vom Blickpunkt des Klinikers aus betrachtet. Ausführlich behandelt sind u. a. die Untersuchungsmethoden, der Zusammenhang mit sonstigen Krankheiten, nervöse Einflüsse auf den i. o. Druck, die Abflußwege des Kammerwassers, Gutachterfragen, das Glaukom des Kindes, Tierversuche, die medikamentöse und chirurgische Therapie.

Eine Einteilung des Stoffes in Abschnitte, sowie genaue Inhalts- und Stichwortverzeichnisse erleichtern die Übersicht. Den meisten Abschnitten sind Zusammenfassungen beigegeben.

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg
Printed in Germany